26e ANNÉE SEPTEMBRE 1912 N° 9

ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

LA COAGULATION DU SANG ET LA GENÈSE DE LA THROMBINE

par les Drs J. BORDET et L. DELANGE

(Institut Pasteur de Bruxelles.)

Nous comptons exposer dans ce mémoire, d'une manière suffisamment explicite, les recherches que nous poursuivons depuis assez longtemps sur la coagulation du sang ; nous avons à vrai dire signalé déjà, dans de brèves notes préliminaires (1), certains faits que nous avons observés, notamment la production de fibrin-ferment aux dépens des plaquettes, le mode de réaction entre celles-ci et le sérum, le pouvoir de la peptone de mettre en liberté du fibrin-ferment dans certaines conditions ; mais ces communications sommaires étaient sobres de détails expérimentaux, elles passaient sous silence divers faits dont la connaissance n'est sans doute point dénuée d'intérêt ; aussi, tout en attirant aujourd'hui l'attention sur quelques notions nouvelles, avons-nous jugé nécessaire de revenir, en les précisant, sur les données que nous avons antérieurement mentionnées. Nous croyons devoir fournir tout d'abord quelques indications concernant la technique que nous avons suivie et les motifs qui nous l'ont fait adopter.

Pour mettre en évidence, dans un liquide soumis à l'étude,

(1) *Bulletin de l'Académie royale de Belgique*, juin 1911 ; *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, mars 1912, t. LXXII, p. 510.

le principe actif qui provoque la coagulation et qu'on appelle communément fibrin-ferment ou thrombine, nous avons très fréquemment employé le plasma oxalaté, que nous préférons de beaucoup à la solution dite pure de fibrinogène. On le sait, le fibrinogène, élément passif, se solidifie sous l'influence de la thrombine, laquelle n'existe dans le sang circulant qu'à l'état de substances-mères par elles-mêmes inactives, et ne se forme aux dépens de ces matières que si le sang extrait du corps est soumis, en présence de sels calciques, au contact d'un corps étranger. Les sels de chaux, indispensables à la production de la thrombine (Arthus et Pagès), ne sont plus nécessaires à la coagulation dès que la thrombine a pu prendre naissance (Pekelharing, Hammarsten) : un liquide calcifié où de la thrombine s'est formée peut, après addition d'un excès d'oxalate ou autre décalcifiant, solidifier le fibrinogène. A condition bien entendu d'avoir été préparé avec le soin voulu, le plasma oxalaté ne contient, outre le fibrinogène, que des matières indifférentes ou des substances-mères condamnées à l'inertie aussi longtemps que la recalcification n'est pas opérée. Si donc on l'additionne d'un liquide contenant de la thrombine, en prenant soin naturellement de maintenir un excès d'oxalate, la coagulation qui survient ne peut être attribuée qu'à cette thrombine préformée, puisque aucune dose additionnelle du même principe ne saurait être engendrée dans le mélange. Quant à la solution dite de fibrinogène pur, et qu'il serait plus conforme aux faits d'appeler simplement solution de fibrinogène obtenue par précipitations successives sous l'influence du sel, elle n'offre pas nécessairement la même garantie. C'est parce qu'elle inspire une fausse sécurité que l'on croit souvent pouvoir, en vue de déceler la thrombine d'un liquide, la mélanger à celui-ci en milieu calcifié. Une méthode de séparation fondée sur le pouvoir insolubilisant du sel concentré n'est pas très délicate ; il serait étonnant que le fibrinogène ainsi obtenu n'eût pas entraîné avec lui certaines matières capables, en présence de chaux, d'intervenir dans la coagulation, d'autant plus que de telles matières témoignent d'une réelle aptitude à s'accoler aux précipités. On exige à vrai dire, comme preuve de la pureté de cette solution, qu'elle ne soit point susceptible de se coaguler spontanément en milieu calcifié. D'abord, on n'obtient pas toujours un produit répondant

entièrement à cette condition. Ensuite, même s'il satisfait à cette exigence, il ne doit pas néanmoins être considéré comme sûrement exempt de proferment. Il est bien vraisemblable, on le sait, que le proferment n'est pas constitué par une substance unique, et qu'outre le calcium, deux matières, peut-être davantage, participent à la formation de la thrombine. Un fibrinogène souillé de l'une seulement d'entre elles pourrait donc rester fluide, même en présence de chaux. Mais en milieu calcifié on ne pourrait s'en servir en vue de rechercher si un liquide donné contient réellement de la thrombine. Car, mélangé à un semblable liquide, il serait capable d'y déceler, non pas exclusivement une thrombine préformée, mais aussi la seconde matière génératrice dont il est lui-même dépourvu ; en effet, s'il rencontrait celle-ci, il en révélerait la présence en se coagulant sous l'influence d'une thrombine à la production de laquelle il aurait lui-même contribué. Il est donc beaucoup plus prudent, pour déceler uniquement une thrombine déjà toute formée, d'opérer en milieu décalcifié. Tout en satisfaisant à cette condition, le plasma oxalaté, d'autre part, se rapproche autant qu'il est possible, par sa composition, du liquide sanguin normal.

Nous n'insistons guère sur les précautions dont la préparation du plasma oxalaté doit être entourée : il faut, lorsqu'on extrait le sang, éviter toute souillure par le suc de tissus. Le tube (1) qui sert à la saignée du lapin (nous avons eu généralement recours à cet animal) doit être enduit intérieurement de paraffine, afin que le sang, avant de rencontrer la solution d'oxalate sodique à 1 p. 100, soit préservé du contact avec le verre. On sait que le contact avec un corps étranger mouillable joue un rôle décisif dans la coagulation. Recueilli au sortir de l'artère, dans un vase enduit de vaseline, le sang ne se coagule que fort lentement (Freund). En se servant de tubes paraffinés,

(1) Nous employons un tube de verre dont la partie inférieure s'effile en bec recourbé que l'on introduit dans l'artère, tandis que l'orifice supérieur est muni d'un tampon d'ouate. Lorsque le sang a atteint la hauteur voulue, on retire le tube, on perd les premières gouttes et, en soufflant à travers le tampon, on dirige le jet dans un tube jaugé, également paraffiné, et qui contient la dose voulue (1 p. 10 du volume total) de solution d'oxalate sodique à 1 p. 100 (cette solution contient aussi 0,5 p. 100 de NaCl) ; on mélange rapidement et on centrifuge en tube de verre ordinaire.

Bordet et Gengou ont obtenu, par centrifugation de sang de lapin, du plasma limpide qui se maintenait longtemps fluide en paraffine, mais se solidifiait rapidement dès qu'on le transvasait dans un récipient en verre ; ils ont montré que le contact avec la paroi, même en l'absence de cellules, hâte considérablement l'apparition de la thrombine. Il est utile de contrôler que le sang extrait ne s'est pas modifié, soit par le contact (1), soit par la pénétration de suc de plaie. Dès qu'on a réparti la majeure partie du sang dans le tube à oxalate, l'excès restant dans le tube à saigner est introduit dans un verre à pied ordinaire (non paraffiné) que l'on garde à l'abri de toute secousse. Un revêtement solide se forme bientôt contre la paroi, mais il ne doit s'épaissir que lentement, la partie centrale du liquide doit se maintenir fluide fort longtemps. Souvent, vers le milieu, le sang est encore fluide après plusieurs heures, tandis que les globules rouges et blancs se déposent ; si l'on en pique la surface avec un tube capillaire, celui-ci se remplit d'un plasma blanchâtre troublé par les plaquettes, que leur faible densité a préservées de la sédimentation. Cette expérience très simple est particulièrement démonstrative au point de vue du rôle du contact avec la paroi.

Obtenu dans ces conditions, le sang de lapin, oxalaté à 1 p. 1000, fournit par centrifugation énergique un plasma stable qui, conservé au frais, reste identique à lui-même pendant les trois ou quatre jours que dure son emploi. S'il y apparaît un léger caillot floconneux, c'est qu'une faute a été commise.

Pour mettre en relief le pouvoir coagulant d'un liquide et servir ainsi de réactif de la thrombine, le plasma oxalaté doit être employé d'une façon qu'il importe de préciser. Il faut évidemment que la réaction s'opère en milieu décalcifié, c'est-à-dire que le calcium soluble apporté par le liquide coagulant soit, comme l'a été celui du plasma, neutralisé par l'oxalate. Or, contrairement à ce que l'on pensait autrefois, il est certain

(1) En général, les paraffines solides du commerce (même mélangées par fusion préalable avec leur volume de paraffine liquide) ne représentent malheureusement pas une paroi tout à fait indifférente pour le sang. Souvent, celui-ci parvient à la mouiller au bout de quelque temps, à la faveur d'une adsorption de matières albuminoïdes, et n'est plus protégé dès lors contre la coagulation par contact. Mais, si l'on opère vite, cet inconvénient n'a pas le temps de se manifester.

que l'activité coagulante d'un liquide contenant de la thrombine, du sérum par exemple, souffre du contact avec l'oxalate. Bordet et Gengou ont apporté à cet égard des renseignements que nous avons pu compléter et sur lesquels il convient de revenir brièvement. Mais nous devons tout d'abord, pour plus de clarté, rappeler les constatations de ces auteurs (1) concernant l'affaiblissement très rapide de la thrombine sous l'influence de la conservation.

Du sang de lapin est, au sortir de l'artère, salé à 5 p. 100 par mélange avec un tiers de solution de NaCl à 20 p. 100 ; la centrifugation fournit un plasma incoagulable : on sait que la forte concentration saline agit comme l'oxalate, c'est-à-dire s'oppose à l'apparition de la thrombine, mais qu'il suffit d'abaisser la teneur saline par addition d'une quantité convenable d'eau distillée (4 volumes) pour permettre aux phénomènes de suivre leurs cours et provoquer ainsi la coagulation. Préparons une telle dilution ; d'autre part, préparons-en une seconde, identique à la première, que nous avons soin d'oxalater à 1 p. 1000 (par addition à 9 volumes de 1 volume d'oxalate sodique à 1 p. 100). Par défibrination la première dilution se convertit bientôt en sérum, dont la thrombine peut être décelée grâce à la seconde dilution. Quelques minutes après que le sérum s'est formé, transportons-en 0,9 cent. cube dans un tube contenant 0,1 cent. cube d'oxalate à 1 p. 100 ; laissons le contact avec l'agent décalcifiant se prolonger pendant cinq minutes, puis ajoutons 1 cent. cube du plasma dilué oxalaté. Le mélange se prend en masse au bout de trois minutes à peine ; le sérum tout récemment obtenu est donc extrêmement actif. Répétons l'expérience un quart d'heure plus tard ; le sérum s'est déjà très nettement affaibli ; il exige une demi-heure pour coaguler le plasma oxalaté. Quant à celui-ci, la conservation ne le modifie guère : il se laisse toujours coaguler rapidement par du sérum frais, lentement par du sérum vieilli, dont il ne décèle donc la thrombine que fort péniblement.

Mais on peut opérer autrement. Au lieu d'ajouter au sérum lui-même la dose requise d'oxalate et d'effectuer quelques minutes plus tard le mélange avec le plasma oxalaté, on peut introduire cette dose dans le plasma oxalaté auquel on ajoute ensuite le sérum ; en d'autres termes, on mélange cette fois, suivant les mêmes proportions que précédemment, du sérum, non décalcifié au préalable, à du plasma doublement oxalaté. Cette variante de technique ne change rien à la constitution du mélange total (dont la teneur en oxalate reste la même), elle a cependant une influence décisive sur le temps d'apparition de la coagulation, surtout lorsqu'il s'agit de sérum un peu vieilli ; la prise en caillot est alors considérablement accélérée. Par exemple, un sérum âgé d'une heure environ, qui, oxalaté à 1 p. 1000, exige une à deux heures pour coaguler volume égal de plasma dilué oxalaté à 1 p. 1000, solidifie en quelques minutes, s'il n'a pas été décalcifié au préalable, volume égal de plasma dilué oxalaté à 2 p. 1000. Quand le sérum est très frais et manifeste corrélativement une énergie extrême, la différence n'est guère perceptible, la coagulation survenant très vite quelle que soit la manière d'opérer.

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1904, p. 101. On le sait, Schmidt avait déjà constaté que la thrombine s'affaiblit en vieillissant.

Il semble résulter de ces faits, constatés par Bordet et Gengou (1), que la thrombine un peu âgée est altérée par l'oxalate lorsqu'elle est touchée par celui-ci avant d'avoir rencontré le fibrinogène. On pourrait objecter, à vrai dire, que sans être réellement atteinte par l'oxalate, elle agit plus aisément en présence de traces de sels calciques solubles et que précisément la neutralisation de ceux-ci n'est pas tout à fait instantanée lorsque à du sérum calcifié on mélange volume égal de plasma oxalaté à 2 p. 1000; la présence de Ca soluble, fût-ce pendant de courts instants, suffit peut-être à favoriser beaucoup la coagulation du fibrinogène par la thrombine. Afin de vérifier le bien fondé de cette remarque, nous avons complété l'expérience de coagulation de plasma oxalaté par le sérum, en réalisant la troisième forme dont elle est susceptible. Si l'on peut, au lieu de mélanger du sérum et du plasma séparément oxalatés tout d'abord, ajouter à du sérum non décalcifié du plasma doublement oxalaté, on peut aussi introduire dans du sérum doublement oxalaté du plasma non décalcifié; naturellement, dans ce cas, celui-ci doit être préparé immédiatement avant l'expérience afin de n'avoir pas eu le temps de se modifier spontanément. Suivant cette troisième façon d'opérer, comme suivant la seconde, au moment où la thrombine rencontre le fibrinogène, un peu de sel calcique persiste dans le mélange pendant les courts instants nécessaires à la précipitation complète par l'oxalate. Signalons ce détail qu'au lieu de diluer le plasma salé par de l'eau distillée pure, ce qui abaisse trop au-dessous de la normale la concentration en sels calciques, nous l'avons allongé d'eau distillée contenant une trace de $CaCl^2$ (0,015 p. 100), ce qui hâte nettement la coagulation (2).

Exp. I. — Par dilution de plasma salé à 5 p. 100, avec 4 volumes d'eau distillée légèrement calcifiée, on obtient après coagulation et défibrination un sérum qu'on laisse vieillir une heure. Une autre portion de plasma salé est diluée de même, immédiatement avant la confection des mélanges indiqués ci-dessous. Tant du sérum que du plasma tout récemment dilué, une

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, 1904, p. 114.

(2) Le plasma salé limpide employé dans cette expérience se coagulait lentement, en 2 heures environ, par dilution avec 4 volumes d'eau distillée; mélangé avec 4 volumes d'eau distillée légèrement calcifiée, il n'exigeait que 45 minutes pour se solidifier. — Bien entendu, la trace de $CaCl^2$ introduite est assez minime pour que le sérum obtenu, oxalaté à 1 p. 1000, contienne un fort excès d'oxalate.

partie est employée telle quelle, une autre est oxalatée à 1 p. 1000, une autre l'est à 2 p. 1000. On introduit dans les tubes :

A. — 1 cent. cube de plasma dilué récent oxalaté à 2 p. 1000, 1 cent. cube de sérum non oxalaté.

B. — 1 cent. cube de plasma dilué récent oxalaté à 1 p. 1000, 1 cent. cube de sérum oxalaté à 1 p. 1000.

C. — 1 cent. cube de plasma dilué récent non oxalaté, 1 cent. cube de sérum oxalaté à 2 p. 1000.

La coagulation s'opère en 7 minutes dans le tube A, en 3 heures dans le tube B, en 2 heures 20 minutes dans le tube C. Elle ne se fait donc rapidement que là où le sérum n'a pas été touché par l'oxalate avant de rencontrer le fibrinogène. Elle est un peu moins lente en C qu'en B (la différence n'est pas très grande), probablement parce que la thrombine atteinte par l'oxalate y est dans une faible mesure régénérée grâce à de faibles traces de chaux provenant du plasma et qui ne sont pas instantanément précipitées par l'oxalate qu'apporte le sérum.

Pour agir énergiquement, il faut que le liquide contenant la thrombine n'ait pas été entièrement privé de son propre sel calcique soluble au moment où il entre en contact avec le fibrinogène.

Ce qui nous importe surtout ici, c'est l'indication technique. Quand on aura besoin d'un réactif sensible de la thrombine, on emploiera le plasma oxalaté à 2 p. 1000, auquel on ajoutera volume égal de sérum non décalcifié. Quand on voudra mettre en relief l'existence dans un liquide d'une thrombine toute fraîche, très énergique, que l'on désire différencier d'une thrombine plus âgée renfermée dans le même liquide, on mélangera ce liquide au plasma après les avoir oxalatés séparément à 1 p. 1000.

Nous aurons rarement recours, dans les expériences qui suivent, au plasma salé. Nous emploierons couramment le plasma de lapin oxalaté à 1 p. 1000, soit contenant encore les plaquettes, soit débarrassé de ces éléments ; nous aurons besoin aussi de suspensions de plaquettes lavées. Pour obtenir celles-ci, il faut s'adresser à la technique classique, qui met à profit la remarquable légèreté des plaquettes et la résistance corrélative, signalée par Mosen en 1893, qu'elles offrent à la centrifugation.

Le sang de lapin qu'on vient d'extraire et d'oxalater à 1 p. 1000 est centrifugé pendant un quart d'heure environ à vitesse modérée, laquelle suffit à réaliser le dépôt des globules rouges et blancs et détermine la séparation d'un plasma très trouble qui a conservé ses plaquettes et qu'on décante. Si l'on tient à obtenir des plaquettes sûrement exemptes de globules rouges et de leucocytes, ce qui est indispensable lorsqu'il s'agit d'établir leur part propre

dans le phénomène de la coagulation, on centrifuge ce plasma à une vitesse plus grande, pendant un temps suffisant mais non exagéré. Une bonne partie des plaquettes se dépose, le plasma surnageant en contient néanmoins encore, tout en s'étant débarrassé totalement des autres éléments cellulaires. Après décantation, une nouvelle centrifugation très énergique et très prolongée de ce plasma fournit un sédiment de plaquettes dont la pureté est contrôlée par l'examen microscopique à l'état frais ou après coloration par le Giemsa. Pour en obtenir une suspension, on délaie le sédiment dans un grand volume de solution physiologique de NaCl (à 0.9 p. 100) oxalatée à 0.5 p. 1000; on centrifuge très énergiquement (environ 3.000 tours) pendant 2 heures à peu près, on décante, on répète le lavage et l'on obtient finalement un dépôt exempt de plasma, que l'on délaie dans un peu de solution physiologique oxalatée.

Suivant l'énergie et la durée de la centrifugation, on obtient un plasma oxalaté qui contient encore des plaquettes, ou bien est très limpide et n'en renferme plus que des traces. A vrai dire, on ne peut garantir que la turbine puisse jamais éliminer entièrement ces éléments ; son action doit être aussi forte et aussi prolongée que possible.

Pour provoquer la coagulation du plasma oxalaté, nous le diluons habituellement avec quatre volumes de solution physiologique calcifiée (que pour abréger nous appellerons EPCa), préparée de telle sorte (1) que ces quatre volumes renferment une fois et demie la quantité de sel calcique nécessaire à la neutralisation d'un volume d'oxalate à 1 p. 1000, le sang dont le plasma dérive ayant été oxalaté à 1 p. 1000. Mieux vaut, en effet, restituer un petit excès de Ca, de telle sorte que malgré la dilution la concentration en cet agent ne descende pas trop bas. On rend ainsi la coagulation plus rapide, on rend négligeables les minimes inégalités que divers échantillons de sang peuvent présenter entre eux quant à leur richesse originelle en sels calciques, et les petites erreurs dans le dosage de l'oxalate dont on les a additionnés. On sait que pour provoquer la coagulation du plasma oxalaté, il n'est nullement nécessaire de lui restituer la totalité de la chaux dont l'oxalate l'avait privé : une trace de calcium soluble suffit. Aussi la proportion de 4 volumes de notre EPCa pour un volume de plasma oxalaté dépasse-t-elle très notablement la dose minima coagulante :

(1) Nous commençons par préparer une solution de $CaCl^2$ précipitant exactement volume égal d'oxalate à 1 p. 100; cette solution-mère contient environ 1 p. 100 de $CaCl^2$. Pour obtenir EPCa, nous mélangeons alors 30 cent. cubes de cette solution à 770 cent. cubes de solution physiologique de NaCl.

pour 1 cent. cube de plasma de lapin, cette dose est environ de 2 cent. cubes et pour 1 cent. cube de plasma de cobaye (également oxalaté à 1 p. 1000) environ de 1 cent. cube 50. Remarquons immédiatement néanmoins que la coagulation d'un mélange de 1 vol. de plasma oxalaté à 1 p. 1000, et de 4 vol. d'EPCa, fournit un sérum qui, oxalaté lui-même à 1 p. 1000, contient désormais un fort excès d'oxalate sodique.

Comme plasma spontanément incoagulable, nous employons très fréquemment une dilution du plasma originel, oxalaté à 1 p. 1000, dans quatre volumes de solution physiologique oxalatée soit à 1 p. 1000 (plasma dilué monoxalaté), soit à 2 p. 1000 (plasma dilué dioxalaté). La dilution est donc au cinquième pour le plasma oxalaté comme pour le sérum.

§ I. — Rôle des plaquettes dans la production de la thrombine pendant la coagulation du sang.

Hayem et Bizzozero, qui ont découvert les plaquettes, leur attribuaient déjà un rôle important dans la coagulation et exprimèrent l'idée qu'elles participaient à la formation de la thrombine. Mosen (1), en 1893, constata que le plasma oxalaté se coagule plus vite par recalcification lorsqu'il est riche en plaquettes que lorsqu'il en est dépourvu. D'après Morawitz (2), les suspensions de plaquettes dans l'eau distillée peuvent provoquer la coagulation de solutions de fibrinogène et joueraient un rôle analogue à celui des globules blancs. Pour Nolf (3), les plaquettes, tout en étant capables de contribuer à la coagulation, ne jouent en somme qu'un rôle banal et assez effacé : si elles n'existaient pas, on ne s'en apercevrait presque pas dans l'observation de la coagulation. Lesourd et Pagniez (4), plus récemment, ont prouvé définitivement que les plaquettes accélèrent la coagulation du plasma oxalaté recalcifié, coagulent le liquide d'hydrocèle, interviennent dans la rétractilité du caillot, tandis que les leucocytes, purgés de plaquettes par centrifugation frac-

(1) *Arch. f. Anat. und physiol. Physiol.* Abt., 1893, p. 352.
(2) *Deutsche Arch. f. klinische Medizin*, 1904, p. 225.
(3) *Archives internationales de Physiologie*, 1908.
(4) *Journal de Physiologie et de Pathologie générale*, 1909, n° 1.

tionnée, se montrent presque inactifs; les propriétés des plaquettes disparaissent par chauffage à 58 degrés.

Selon quel mécanisme les plaquettes interviennent-elles pour favoriser si nettement la coagulation? Servent-elles de support au fibrinogène dont la condensation à l'état solide s'opère ainsi plus facilement? Ne jouent-elles qu'un rôle thromboplastique banal? Interviennent-elles, au contraire, dans l'élaboration de la thrombine elle-même et, dans ce cas, leur participation est-elle plus importante que celle des autres cellules sanguines? Pour le savoir, nous avons répété les expériences de Lesourd et Pagniez, en ayant soin d'évaluer en outre la teneur en thrombine des sérums issus de la coagulation soit de plasmas riches en plaquettes, soit de plasmas privés de ces éléments. Nous avons constaté ainsi des différences frappantes entre ces deux sortes de sérums: la thrombine est très abondante dans les premiers, les seconds n'en contiennent que des traces.

Exp. II. — Du plasma oxalaté de lapin, modérément centrifugé et contenant donc encore des plaquettes mais privé presque complètement de ses globules rouges et blancs, est divisé en deux parts : l'une est gardée telle quelle, l'autre centrifugée à fond jusqu'à obtention d'un plasma très limpide que l'on décante et qui au microscope se montre purgé de toute cellule. Volumes égaux des deux plasmas sont additionnés de quatre volumes d'eau physiologique calcifiée (EPCa). Le plasma contenant encore ses plaquettes se coagule en 8 minutes 1/2, l'autre en 39 minutes (à la température du laboratoire).

Exp. III. — Le plasma à plaquettes de l'expérience II contenant encore de très rares lymphocytes, on procède cette fois d'une manière plus rigoureuse. Du plasma riche en plaquettes (obtenu par centrifugation modérée) est turbiné à nouveau, à grande vitesse, pendant près d'une heure. On décante le plasma surnageant qui a perdu la grande majorité de ses plaquettes, mais est encore un peu trouble; une nouvelle centrifugation très prolongée fournit un sédiment peu abondant formé de plaquettes et tout à fait exempt d'autres éléments cellulaires.

Un peu de plasma surnageant, très limpide, que l'on a décanté est versé sur le sédiment que l'on y délaie. Volumes égaux de ce plasma à plaquettes et du plasma très limpide décanté sont additionnés de quatre volumes d'EPCa ; le premier plasma se coagule en 13, le second en 30 minutes.

Exp. IV. — On répartit dans deux tubes volumes égaux (1 c. c.) d'un même plasma oxalaté très limpide et dépouillé autant que possible de ses plaquettes. On ajoute à l'un des tubes une goutte d'une suspension épaisse de plaquettes bien lavées (ne contenant pas de leucocytes) qui communique au plasma un trouble intense. On introduit ensuite dans les deux tubes quatre volumes d'EPCa. Le plasma enrichi de plaquettes se coagule en 3, l'autre en 30 minutes.

Exp. V. — On déchire les caillots formés dans les plasmas de l'expérience II, de manière à faire sourdre les sérums, que l'on oxalate à 1 p. 1000. Cinq

minutes plus tard, on les mélange à volume égal de plasma dilué oxalaté à 1 p. 1000. Le sérum issu du caillot sans plaquettes ne provoque pas la coagulation même après 24 heures; l'autre provoque la coagulation en moins d'une heure. Le premier est pourtant le plus frais des deux, puisque le caillot dont il est issu s'est formé après celui du plasma à plaquettes.

Mais on peut aussi évaluer la teneur en thrombine des deux sérums en les ajoutant, sans les décalcifier, à volume égal de plasma dilué dioxalaté. Dans ces conditions, le premier sérum (du plasma sans plaquettes) ne provoque la coagulation qu'après plusieurs heures, l'autre en 16 minutes.

On peut aussi déterminer la richesse en thrombine en recherchant dans quelle mesure les sérums hâtent la coagulation du plasma très limpide que l'on vient de recalcifier.

Exp. VI. — Livré à lui-même, ce plasma (dilué et recalcifié par quatre volumes d'EPCa) se coagule en 35 minutes. Mais additionné d'un dixième de son volume de sérum (on utilise dans ce but les sérums de l'expérience IV) provenant soit du caillot à plaquettes, soit du caillot sans plaquettes, il se coagule soit en 7, soit en 28 minutes. Le second de ces deux sérums n'accélère donc que très peu la coagulation.

On le voit, les divers procédés destinés à évaluer la teneur en thrombine donnent des résultats concordants et la part des plaquettes dans la production de ce principe apparaît avec beaucoup d'évidence.

Lesourd et Pagniez ont signalé que, contrairement à ce qui se passe pour le plasma oxalaté, le plasma salé que l'on dilue par l'eau distillée se coagule également vite, soit qu'il contienne encore des plaquettes, soit qu'il en ait été dépouillé au préalable par une forte centrifugation. Nous avons observé le même fait et nous croyons pouvoir l'attribuer à ce que la forte concentration saline extrait aisément le principe actif des plaquettes qui diffuse alors dans le liquide ambiant; d'autre part, il est probable qu'en raison de sa densité supérieure il est plus difficile de purger un plasma salé de ses plaquettes (ou des débris de ses plaquettes) par la centrifugation.

L'expérience montre, en effet, qu'un plasma salé à 5 p. 100, additionné de quatre volumes d'eau distillée (que nous calcifions très légèrement), fournit, conformément aux données de Bordet et Gengou, un sérum remarquablement riche en thrombine, et il importe assez peu, à cet égard, que le plasma salé ait été, au préalable, modérément turbiné, ou soumis à la centrifugation très prolongée usitée pour l'élimination des plaquettes. Mais si l'on sale à 5 p. 100 deux plasmas oxalatés, l'un riche, l'autre très pauvre en plaquettes, si on les recalcifie et les dilue

ensuite par quatre volumes d'eau distillée, les temps de coagulation sont respectivement de 1 h. 1/2 et de 4 h. 1/4.

D'autre part, l'influence extractive exercée par le sel concentré sur les plaquettes peut se démontrer comme suit :

Exp. VII. — Dans deux tubes A et B on verse 3 cent. cubes de plasma oxalaté riche en plaquettes; en A, on ajoute 1 cent. cube de NaCl à 20 p. 100, puis, cinq minutes plus tard, 16 cent. cubes d'eau; en B, on ajoute 17 cent. cubes d'un mélange d'une partie de NaCl à 20 p. 100 avec 16 parties d'eau. Les deux plasmas ont donc désormais la concentration saline; la seule différence, c'est que le plasma du tube A a été exposé à une forte concentration. On centrifuge les deux tubes pour éliminer les plaquettes, et on recalcifie les liquides surnageants décantés. Après coagulation (qui s'opère plus vite en A), on détermine l'énergie coagulante des sérums obtenus; on trouve que le sérum de A est beaucoup plus actif que celui de B, où les plaquettes n'ont été en contact qu'avec du sel dilué.

Il ne faudrait pas conclure de cette expérience que lorsque les conditions de concentration sont normales, les plaquettes ne mettent aucunement en liberté leurs principes actifs dans le liquide ambiant.

Cette diffusion s'accomplit en réalité, mais pas instantanément; les suspensions de plaquettes dans la solution physiologique oxalatée à 0,5 p. 1000, que l'on conserve quelque temps, un, deux jours par exemple, à la température du laboratoire, fournissent par centrifugation un liquide presque limpide et très actif, qui fonctionne donc comme un extrait de plaquettes.

Un caractère important du principe actif des plaquettes, c'est sa résistance remarquable à la chaleur :

Exp. VIII. — On a préparé une suspension de plaquettes lavées, dans la solution physiologique oxalatée à 0,5 p. 1000. Une partie est chauffée pendant 15 minutes à 100 degrés.

Dans trois tubes ABC, on laisse tomber : en A, 5 gouttes de plaquettes chauffées à 100 degrés; en B, même dose de plaquettes non chauffées; en C, même dose de solution physiologique oxalatée à 0,5 p. 1000. On ajoute ensuite aux trois tubes 2 cent. cubes d'EPCa et 0,5 cent. cube de plasma oxalaté bien limpide; la coagulation exige en A et B, 10 minutes, en C, 30 minutes.

Des expériences analogues montrent que les plaquettes gardent leur activité après dessiccation.

La thermostabilité de la substance active des plaquettes permet aisément l'obtention de suspensions stérilisées, et, si l'on fait intervenir la centrifugation, d'extraits stériles très actifs. Il suffit de placer les suspensions dans le bain de vapeur à

100 degrés, pendant 6 à 7 minutes, à trois reprises, à quelques jours d'intervalle. La chaleur favorise le floconnement des plaquettes, qui se centrifugent alors aisément. Le liquide surnageant, absolument limpide ou à peine opalescent, se montre très actif et garde longtemps ses propriétés :

Exp. IX. — On introduit dans trois tubes 1 cent. cube de plasma oxalaté bien limpide, puis 4 cent. cubes d'EPCa. On ajoute ensuite dix gouttes, au tube A, d'une émulsion de plaquettes fraîches, au tube B, d'extrait de plaquettes obtenu comme il vient d'être dit et qui a été conservé pendant deux mois, au tube C, de solution physiologique oxalatée à 0,5 p. 1000.

La coagulation s'opère en A en 15 minutes, en B en 20 minutes, en C en deux heures.

MM. Lesourd et Pagniez ont beaucoup insisté sur le rôle des plaquettes dans la rétractilité du caillot (1). Nous pouvons confirmer entièrement leurs observations, ce rôle est extrêmement manifeste. En l'absence de plaquettes, la rétraction du caillot est pour ainsi dire nulle. Le plasma oxalaté limpide, que l'on additionne de plaquettes, fournit après recalcification un caillot d'autant plus rétracté que la dose des plaquettes ajoutées a été plus copieuse. Si à 1 cent. cube de plasma oxalaté limpide on ajoute quelques gouttes d'une suspension épaisse de plaquettes et 4 cent. cubes d'EPCa, la coagulation se fait en 4 minutes (sans plaquettes le même plasma dilué ne se coagule qu'après une demi-heure), et le caillot décollé du tube se rétracte, en devenant très compact, au point de ne pas dépasser, le lendemain, la dimension d'un grain de blé.

Sont-ce les matériaux insolubles constituant la trame même des plaquettes qui interviennent dans ce phénomène de contraction, ou bien est-ce la substance qui participe à la formation de la thrombine et qui, nous l'avons vu, est susceptible de se diffuser dans le liquide ambiant? Les faits plaident en faveur de la première hypothèse. L'extrait limpide de plaquettes, obtenu par stérilisation et centrifugation, et qui active la coagulation, ne favorise pas la rétraction. Les caillots formés dans les tubes de l'expérience IX ont été décollés peu après leur formation. On trouve, le lendemain, que seul le caillot du tube A s'est considérablement rétracté ; ceux des tubes B et C n'ont guère diminué de volume.

(1) *Journal de Physiologie et de Pathologie générale*, 1907, IX, p. 579.

Il résulte de l'ensemble des expériences citées ci-dessus que le rôle des plaquettes dans l'élaboration de la thrombine est considérable. Mais est-il vraiment prédominant? Sont-elles plus aptes encore à fournir la thrombine que ne le sont les leucocytes, dont l'intervention est depuis longtemps jugée essentielle dans l'acte de la coagulation? L'étude des exsudats péritonéaux démontre, à n'en pas douter, qu'on doit attacher plus d'importance au rôle des plaquettes qu'à celui des globules blancs.

Lorsqu'on injecte, dans le péritoine de lapins, du bouillon ou simplement de la solution physiologique, il se forme, comme on sait, un exsudat où l'on ne trouve pas de plaquettes, mais qui est très riche en leucocytes vivants, et que l'on peut retirer par ponction en sacrifiant l'animal. S'il ne s'est produit aucune hémorragie, l'exsudat blanchâtre obtenu ne se coagule que très péniblement et par fractions ; des heures se passent souvent avant que la totalité du fibrinogène se soit convertie en fibrine. Certes la partie liquide d'un tel exsudat ne saurait être identifiée entièrement au plasma, dont elle diffère nettement : elle renferme moins de fibrinogène, elle contient de la mucine qui la rend visqueuse, elle est moins riche aussi, comme nous le verrons plus loin, en certains principes intervenant dans la coagulation. Néanmoins l'exsudat est apte à fournir des caillots typiques, son étude peut donc procurer des renseignements valables, et donne lieu notamment à l'importante constatation que voici : de pareils exsudats, qui malgré leur richesse extrême en leucocytes restent si longtemps liquides, se prennent en masse beaucoup plus vite lorsqu'on les additionne d'une dose même faible de suspension de plaquettes soigneusement lavées. On peut, pour rendre l'expérimentation plus aisée, oxalater l'exsudat dès qu'il est recueilli, et le scinder par centrifugation en deux portions, l'une contenant tous les leucocytes, l'autre limpide et qui en est débarrassée. Lorsqu'on recalcifie ces liquides, la coagulation peut s'opérer, lentement à vrai dire, mais c'est dans la portion leucocytaire qu'elle se montre d'abord. Ceci prouve que les leucocytes jouent un rôle. Toutefois, il suffit d'ajouter à la portion limpide une trace de plaquettes pour que la coagulation s'y effectue plus vite que dans la portion chargée de globules blancs. Ceux-ci pourtant représentent une

quantité de matière bien supérieure à celle, provenant des plaquettes, que l'on a mise en œuvre dans l'autre liquide.

L'exsudat qu'on obtient ainsi chez le lapin après injection de solution physiologique ne remplit généralement pas toutes les conditions désirables, en ce sens qu'il est souillé souvent de traces de sang extravasé que trahit la présence de rares globules rouges. Aussi vaut-il mieux s'adresser au cobaye, lequel fournit des exsudats blancs qu'il suffit de centrifuger pour obtenir, sans que la décalcification soit nécessaire, un liquide surnageant pratiquement incoagulable par ses propres moyens :

On injecte le soir 10 cent. cubes de bouillon dans la cavité péritonéale de deux cobayes. On ponctionne le lendemain matin et l'on recueille plusieurs centimètres cubes d'un exsudat blanc très peu coagulable, extrêmement riche en leucocytes. Une partie est conservée telle quelle, une autre est centrifugée et fournit par décantation un liquide surnageant très limpide. D'autre part, on s'est procuré, par saignée à la carotide et suivant la technique habituelle, une suspension de plaquettes bien lavées de cobaye.

Exp. X. — Dans deux tubes A et B on répartit 0,3 cent. cube d'exsudat leucocytaire non centrifugé, on ajoute volume égal de solution physiologique. On introduit ensuite dans A une goutte de suspension assez diluée de plaquettes (dans la solution physiologique oxalatée à 0,5 p. 1000). Au bout d'une heure, la coagulation s'est faite en A. Le liquide B est encore liquide après 4 heures ; on le trouve coagulé le lendemain.

Exp. XI. — Le liquide surnageant limpide obtenu par centrifugation de l'exsudat est distribué à dose de 0,3 cent. cube dans deux tubes que l'on additionne de 0.3 cent. cube de solution physiologique et de 0,3 cent. cube d'EPCa. L'un des tubes reçoit en outre deux gouttes de la suspension de plaquettes ; la coagulation s'y effectue en 50 minutes ; l'autre mélange est encore liquide le lendemain.

Ces deux expériences sont réalisées, bien entendu, aussi tôt que possible après la récolte de l'exsudat. Celui-ci, gardé tel quel, ne se coagule spontanément que le lendemain. L'exsudat débarrassé des leucocytes est encore fluide après deux jours. Bien entendu, de pareils exsudats sont susceptibles de se coaguler assez rapidement sous l'influence du sérum, mais nous reviendrons plus loin sur ce point.

Ces expériences mettent en lumière la supériorité (admise par Lesourd et Pagniez et même antérieurement par Morawitz) des plaquettes sur les leucocytes comme agents de la coagulation. Les exsudats leucocytaires, assez rebelles à la coagula-

tion spontanée et aptes corrélativement à fournir par centrifugation un plasma quasi incoagulable par ses propres moyens, se comportent — c'est un rapprochement qui s'impose — à la manière du sang d'oiseau qui (soigneusement préservé du contact avec la plaie) se maintient longtemps liquide, ainsi que Delezenne l'a montré. Tous deux, le sang d'oiseau et l'exsudat, renferment des leucocytes, mais sont dépourvus de plaquettes. Débarrassé autant que possible de ses plaquettes, le plasma sanguin de lapin se coagule lentement et ne fournit que des traces de thrombine. Etant donné le contraste très frappant entre un tel plasma et celui qui a conservé ses plaquettes, il semble légitime d'admettre que si la centrifugation réussissait à éliminer totalement ces éléments, et s'il était possible en outre d'empêcher les plaquettes de libérer par diffusion des traces de leur principe actif, on obtiendrait un plasma de lapin se comportant exactement comme celui d'oiseau, c'est-à-dire à peu près incoagulable spontanément, même en milieu calcifié. Il nous est arrivé parfois d'obtenir des plasmas limpides si bien épurés de leurs plaquettes, qu'après recalcification ils exigeaient deux heures et demie pour se coaguler à une température voisine de 15 degrés. Il fallait attendre près de deux heures pour observer la formation d'un anneau de caillot, à la surface du liquide au contact du verre. Et la pénurie en thrombine se trahissait en ce que la coagulation ne se propageait que fort péniblement à la masse entière du liquide, même si à ce moment on le soumettait à une défibrination énergique; la séparation de la fibrine s'effectuait en plusieurs fois; on devait défibriner très longtemps pour obtenir un sérum entièrement débarrassé de fibrinogène et incapable de se coaguler à nouveau (1).

Une expérience complémentaire, dont nous dirons un mot,

(1) De tels plasmas qui se coagulent lentement et en plusieurs fois conviennent spécialement à l'observation des diverses phases de la coagulation. Une première coagulation donne après défibrination un liquide bien limpide. Quelque temps après, on voit ce liquide se troubler par l'apparition non pas de filaments de fibrine, mais d'un véritable précipité d'aspect pulvérulent formé de particules qui ne semblent nullement adhérer les unes aux autres : des oscillations imprimées au liquide y font naître des ondes soyeuses semblables à celles que l'on observe en inclinant des suspensions microbiennes un peu diluées. Puis l'aspect change, une coagulation véritable survient. Les particules semblent alors enrobées dans une gangue visqueuse

nous a confirmés dans l'idée que si le plasma limpide, même bien centrifugé, se coagule encore sans difficulté extrême par recalcification, cela tient à ce qu'il renferme encore des plaquettes ou peut-être seulement des débris de ces éléments : on peut obtenir, par l'action de l'eau distillée, de CO^2 et de la centrifugation, un plasma incoagulable spontanément mais coagulable par l'addition de plaquettes. Et l'on a de bonnes raisons de croire que ce traitement a eu pour effet d'éliminer complètement les plaquettes.

Exp. XII. — Du plasma oxalaté limpide de lapin, versé dans un tube A, est additionné de 9 volumes d'eau distillée ; on y fait passer ensuite un courant de CO^2 ; il se produit un trouble net, pas très intense cependant. On centrifuge très énergiquement, puis l'on décante dans un tube B environ la moitié supérieure du liquide, en veillant à ne retirer aucune trace du précipité qui adhère d'ailleurs au fond et aux parois du tube. Le sédiment est ensuite agité dans le reste du liquide qu'on a laissé dans le tube A. On dispose donc de deux plasmas dilués, l'un A, qui renferme tout le précipité, l'autre B, qui en est privé. On les resale jusqu'à teneur normale en NaCl, puis les recalcifie (à 5 cent. cube de chaque liquide on ajoute 0,2 cent. cube de NaCl à 20 p. 100 et 0,2 cent. cube de $CaCl^2$ à 5 p. 1000). On trouve que B ne se coagule pas, même le lendemain, tandis que A se coagule en 55 minutes. Mais si dans 0,5 cent. cube de B on introduit une goutte de suspension de plaquettes lavées, la coagulation s'opère en une demi-heure.

Ce qui, d'autre part, fait penser que l'absence de coagulation spontanée du liquide A est due à une élimination absolue des dernières traces de plaquettes, c'est que le barbotage de CO^2, dans une suspension de plaquettes allongée au préalable de plusieurs volumes d'eau distillée, y détermine une violente agglutination de ces éléments qui se condensent en filaments compacts aptes à se déposer vite et qui ainsi s'éliminent aisément du liquide (1).

On obtient encore un plasma dilué B, incoagulable spontanément, mais coagulable par l'addition pure et simple de plaquettes, si l'on traite par l'eau distillée et CO^2 un plasma

qui se les incorpore en devenant filamenteuse et est entraînée par la défibrination ; on enlève ainsi une nouvelle fraction du fibrinogène transformé en fibrine, le liquide redevient limpide. Au bout de quelque temps, nouveau trouble et répétition des mêmes phénomèmes. L'opinion, généralement admise d'ailleurs, que la coagulation débute par une précipitation, semble bien d'accord avec l'observation.

(1) CO^2 ne précipite pas les plaquettes lorsque celles-ci baignent dans la solution physiologique.

oxalaté qui, ayant été insuffisamment centrifugé, contient sûrement de nombreuses plaquettes ; on les retrouve dans le sédiment centrifugé, lequel, agité dans le liquide, lui communique la coagulabilité spontanée après rétablissement de la teneur saline et récalcification.

Si donc la coagulation d'un sang complet, contenant tous ses éléments cellulaires, fournit, comme Nolf l'a constaté (1), un sérum plus riche en thrombine que celle d'un plasma centrifugé, c'est essentiellement à l'existence des plaquettes qu'il convient d'attribuer la raison d'être de ce fait. Pour apprécier entièrement leur rôle, il faut tenir compte de ce qu'elles se trouvent dans le sang en nombre énorme, et de ce que, comme nous le préciserons plus loin, une trace de plaquettes suffit déjà à produire une dose fort notable de thrombine. On doit considérer aussi ce fait, signalé par tous les observateurs et aisément vérifiable, que les plaquettes s'accolent volontiers aux corps étrangers, c'est-à-dire s'accumulent précisément aux points où s'exerce l'influence de contact si décisive dans le processus de formation de la thrombine aux dépens des substances mères. On conçoit dès lors la supériorité, au point de vue de l'aptitude à la coagulation par ses propres moyens, du sang de mammifères sur celui des oiseaux, qui, même au contact du verre, reste longtemps fluide. C'est aux plaquettes qu'est due cette supériorité. Elles permettent au sang de mammifères de se coaguler rapidement sans le secours du suc de tissu, pourvu bien entendu qu'un contact soit établi avec un corps solide mouillable.

(*A suivre.*)

(1) *Archives internationales de Physiologie*, 1908.

RECHERCHES SUR LA LÈPRE

(PREMIER MÉMOIRE)

LA LÈPRE DES RATS

(LEPRA MURIUM)

par E. MARCHOUX et F. SOREL.

Ubiquité de la maladie.

En 1903, Stefansky (1) a fait connaître une maladie des rats, causée par un bacille acido et alcoolo-résistant qui se multiplie chez ces rongeurs en provoquant des lésions comparables à celles que le bacille de Hansen produit chez l'homme. Le savant russe qui, pour la prophylaxie antipesteuse, examinait quotidiennement à Odessa un grand nombre de rats, avait été frappé de voir que beaucoup d'animaux étaient porteurs de ganglions volumineux sans présenter aucun symptôme de peste. La coloration de Ziehl lui révéla dans ces organes la présence d'un bacille spécial qui s'y était multiplié avec une abondance extrême et qu'il rechercha ensuite systématiquement. Il le trouva chez 5 p. 100 des rats d'égouts qui lui furent apportés. Des 3 espèces vivant à Odessa, *Mus rattus*, *M. alexandrinus* et *M. norvegicus*, seule cette dernière fournit des malades.

La lèpre des rats est répandue dans le monde entier. — La maladie découverte par Stefansky paraît être aussi répandue que le rat d'égouts. Elle a été signalée à Berlin par Lydia Rabinowitch (2); en Angleterre, par George Dean (3); en Australie,

(1) Stefansky, Eine lepraähnliche Erkrankung der Haut und der Lymphdrüsen bei Wanderratten. *Centr. f. Bakt. Orig.*, t. XXXIII, 1903.

(2) Lydia Rabinowitch, Ueber eine durch saüre-feste Bakterien hervorgerufene Hauterkrankung der Ratten. *Centr. f. Bakt. Orig.*, t. XXXIII, 1903.

(3) G. Dean, A disease of the rat caused by an acid-fast bacillus. *Centr. f. Bakt. Orig.*, t. XXXIV, 1903.

— Further observations on a leprosy-like disease of the rat. *Journ. of hyg.*, t. V, 1905.

par Tidswell Frank (1) et J. R. Bull (2); aux Etats-Unis, par W. Wherry (3), Mc Coy (4) et A. Walker (5); en Roumanie, par Mezincescu (6) et Alexandrescu (7); au Japon, par Kitasato (8) et en Nouvelle-Calédonie, par A. Lebœuf (9). Aux îles Hawaï, Brinckerhoff (10) l'a recherchée vainement sur 16.000 rats. Ehlers, Bourret et With (11) ne l'ont pas trouvée aux Antilles danoises (Sainte-Croix). Nous l'avons rencontrée assez facilement parmi les rats des égouts de Paris. Sur 1.296 rats que nous avons systématiquement examinés, 65 étaient porteurs de bacilles acido-résistants, soit 5 p. 100. C'est, comme on le voit, la proportion qui a été trouvée par Stefansky à Odessa. Ces chiffres se rapportent au nombre global des animaux autopsiés, mais le pourcentage varie beaucoup suivant l'origine des rongeurs. Comme Mc Coy l'a reconnu à San-Francisco, nous avons constaté pour certains lots de rats capturés dans des dépôts d'os, dans les clos d'équarrissage et aux abattoirs une proportion de malades plus forte, s'élevant 14, 19 et même 45 p. 100.

Elle est spéciale aux rats d'égouts. — Tous les animaux porteurs de bacilles étaient des rats d'égouts. C'est là une cons-

(1) Tidswell Frank, Note on leprosy-like disease in rats. *Reports of the board of health on leprosy in New South Wales*, 1904, et *Lepra*, t. VI, 1906.

(2) J. R. Bull, Leprosy-like disease of the rat. *Intercolon. med. journ. Australia*, Melbourne, 1907.

(3) W. B. Wherry, The leprosy-like diseases among rats on the Pacific coast. *Journ. of Amer. Med. Assoc.*, t. L, p. 1908.

— Notes on rat leprosy and on the fate of human and rat lepra bacilli in flies. *Public health reports*, 16 oct. 1908.

— Experiments on vaccination against rat leprosy. *Journ. of inf. diseases*, t. VI, 1909.

(4) G. W. Mc Coy, Leprosy-like disease in rats. *Public health reports*, 10 juillet 1908.

— Distribution of the leprosy-like disease of rats in San Francisco. *Public health reports*, 6 novembre 1908.

(5) A. Walker, A report of some cases of rat leprosy. *Journ. Amer. Med. Assoc.*, t. LI, 1908.

(6) Mezincescu, Maladie lépreuse des rats et ses relations avec la lèpre humaine. *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1908 et 1909.

(7) J. Alexandrescu, Lepra Sobolanilor. *Thèse de Jasi*, 1908.

(8) Kitasato, Die Lepra in Japan, *2e conférence de la lèpre*, 1909, t. II.

(9) A. Lebœuf, Existence de *Lepra murium* en Nouvelle-Calédonie. *Bull. Soc. Path. Exot.*, n° 7, juillet 1912.

(10) W. R. Brinckerhoff, Rat leprosy. *Public health bulletin*, n° 30, 1910.

(11) Ehlers, Bourret et With, Recherches sur le mode de propagation et les procédés de diagnostic bactériologique de la lèpre, *Bull. Soc. de Path. Exot.*, t. IX, 1911, p. 253.

tatation qui concorde avec les observations faites par tous les auteurs. La maladie spontanée n'apparaît qu'à titre tout à fait exceptionnel chez des rats d'une autre espèce.

Dujardin-Beaumetz (1) a vu un rat blanc très fortement atteint. Ce rat provenait d'ailleurs des égouts parisiens, où on rencontre assez fréquemment des albinos. Les rats blancs ne sont qu'une variété de surmulots, la contamination de cet animal n'est donc pas surprenante. La maladie a été rencontrée chez *Mus rattus* au Punjab (2). Kitasato (3) a trouvé un *M. alexandrinus* atteint de *Lepra murium*. Ce sont là les deux seuls cas jusqu'à présent signalés de maladie de Stefansky en dehors des surmulots *M. norvegicus* ou *decumanus*.

La maladie.

L'affection des rats se présente sous deux formes qui ont été décrites par Stefansky : une purement ganglionnaire, l'autre musculaire et cutanée, celle-ci n'étant qu'un stade plus avancé de la première.

Forme ganglionnaire. — La forme ganglionnaire, la plus fréquente, ne se manifeste extérieurement par aucun signe et n'est qu'une découverte d'autopsie. Elle reste localisée aux ganglions axillaires, inguinaux ou sous-maxillaires. A Odessa et Berlin, ce sont les ganglions axillaires qui sont le plus souvent pris. Nous avons vu qu'à Paris les ganglions inguinaux sont infectés au moins aussi souvent que ceux de l'aisselle.

Les ganglions sont souvent augmentés de volume, durs, blanchâtres : ils atteignent quelquefois des dimensions considérables. A la première période de la maladie, on peut en trouver qui présentent la grosseur d'un haricot. A la seconde, leurs dimensions sont parfois énormes ; Mc Coy en a rencontré un qui mesurait 3 centimètres de long sur 1 cent. 5 de large. Mais si l'augmentation de volume des ganglions est commune dans la lèpre des rats d'égouts, on ne peut cependant

(1) Communication orale.
(2) Reports on plague investigations in India. *Journ. of hygiene*, t. VII, nº 6. décembre 1907, p. 911.
(3) *Loco citato.*

la considérer comme un signe caractéristique et un moyen de diagnostic de la maladie.

On trouve des rats infectés avec des ganglions relativement petits, alors que la plupart des animaux qu'on capture sont porteurs de ganglions volumineux sans trace d'infection. Cette observation tendrait même à faire croire que l'hypertrophie est due plutôt à une cause étrangère qu'à la lèpre elle-même.

Tous les groupes ganglionnaires peuvent être atteints ou seulement quelques-uns. Dans certains cas, rares d'ailleurs, nous n'avons trouvé de bacilles que dans un seul ganglion des groupes inguinaux ou médiastinaux; une seule fois, il s'agissait d'un ganglion axillaire.

Forme musculo-cutanée. — La forme musculo-cutanée est beaucoup plus rare. Stefansky ne l'a rencontrée que 9 fois; Mc Coy, 22 fois sur 13.500 rats, nous-mêmes 8 fois sur 1.296 rats, soit sur une proportion de 0,60 p. 100.

Les animaux sont cachectiques, se meuvent avec difficulté et peuvent quelquefois être pris à la main (G. Dean, Wm B. Wherry). Ils portent des plaques alopéciques plus ou moins étendues. La peau est épaisse, bosselée, très adhérente aux tissus sous-jacents; on y remarque parfois de vrais nodules qui peuvent atteindre les dimensions d'une noisette, mais qui, en général, sont plus étalés que dans la lèpre humaine. Les parties malades sont souvent ulcérées. Mc Coy signale la présence de ces ulcères comme plus fréquente (63,6 p. 100) que l'alopécie (55,5 p. 100).

A l'autopsie, on constate que, dans les cas les plus légers, la face interne du derme est chagrinée, recouverte de nodosités saillantes minuscules et quasi-microscopiques.

A une période plus avancée, la peau se détache difficilement, le tissu graisseux a disparu et a été remplacé par du tissu conjonctif assez serré.

Si, après avoir dépouillé le rat, on en examine la peau par transparence, les moindres épaississements se manifestent et permettent de préciser l'étendue et l'importance des lésions cutanées. Dans tous les cas que nous avons observés, la maladie était surtout développée dans la moitié postérieure du corps, tantôt à la partie dorsale, souvent à la partie ventrale.

L'infection, dans ce dernier cas, semblait toujours avoir eu pour point de départ le groupe ganglionnaire inguinal, s'être,

Fig. 1. — Peau d'un rat lépreux étalée et conservée en Kaiserling.

La photographie a été faite par transparence. Les taches noires indiquent les nodules.

ensuite, étendue de proche en proche vers la ligne blanche et surtout vers les flancs. Elle avait amené la formation d'une

sorte de plastron de tissu néoformé se terminant symétriquement en pointes dirigées vers la partie antérieure du corps.

Plusieurs fois, nous avons trouvé les ganglions sous-maxillaires hypertrophiés, et dans ces cas, comme dans celui de G. Dean, l'affection s'étendait à la glande sous-maxillaire.

Dans les organes profonds, on n'observe pas de lésions macroscopiques bien marquées. Mc Coy a vu de petites nodosités sur le péritoine et le péricarde pariétaux, dans le foie et la rate; G. Dean signale dans un cas la présence d'une petite zone de nécrose dans le foie. Personnellement, nous n'avons pas rencontré d'infection assez avancée pour qu'aient eu le temps de se produire dans les organes profonds, en dehors des ganglions lymphatiques et en particulier des ganglions du médiastin, des lésions visibles à l'œil nu.

Histologie pathologique.

Le parasite est toujours intracellulaire. — Le bacille de la lèpre du rat, comme celui de la lèpre humaine, est un parasite spécial des cellules mésodermiques dans lesquelles il se multiplie avec une extraordinaire abondance, paraissant gêner la cellule hôte par encombrement, plutôt que l'altérer par une sécrétion toxique. Si, dans les tissus, on en trouve des exemplaires qui semblent libres, c'est une constatation si rarement faite qu'on doit la considérer plutôt comme un accident de préparation que comme une réalité physiologique.

Comme tous les bacilles acido-résistants, le bacille de la lèpre du rat est protégé par sa gaine cireuse et résiste à la phagocytose.

Impuissantes à le faire disparaître, les cellules se distendent pour contenir la culture et en restreindre le développement. Mais leur résistance finit par être vaincue; la membrane d'enveloppe se rompt et les bacilles se répandent au dehors, promptement englobés d'ailleurs par les cellules voisines, même par les plus jeunes, car on rencontre des lymphocytes qui déjà contiennent des bacilles.

En général, la cellule malade est vite entourée d'un certain nombre d'autres qui l'aident à défendre l'organisme contre la pullulation microbienne. Ces cellules, véritables étais sans

cesse apportés pour soutenir l'édifice protecteur, englobent les germes dès qu'ils s'échappent et forment une barrière que l'infection ne franchit pas vite.

Toutes ces cellules sont hypertrophiées, pressées les unes contre les autres, quelquefois jusqu'à confusion de leur protoplasma qui s'est réuni pour constituer une cellule géante. Ce sont des cellules épithélioïdes qui forment par leur ensemble un véritable tubercule, mais un tubercule qui, comme l'ont montré Boinet et Borrel dans la lèpre, n'a pas la constitution du tubercule de la tuberculose et n'est point entouré d'une gaine de leucocytes polynucléaires.

Il se répand par les voies lymphatiques. — Du point d'inoculation, l'infection suit les trajets lymphatiques comme les cellules qui la convoient et gagne rapidement les ganglions de la région. D'abord peu nombreuses, les cellules parasitaires restent cantonnées près des voies afférentes, à la zone périphérique du ganglion, bientôt immobilisées par la volumineuse inclusion qu'elles portent et qui ne leur permet plus aucun mouvement propre. Elles forment des amas qui grandissent peu à peu autour de celles d'où est partie l'infection. Quand elles sont peu chargées de bacilles, elles peuvent se mobiliser, et vont alors constituer des foyers secondaires qui se développent à leur tour. Tous ces nodules finissent par se réunir et progressivement le ganglion est envahi tout entier. Les follicules comprimés diminuent de volume et disparaissent, remplacés par des traînées lymphocytaires qui forment comme des trajets entre les nodules bacillaires. Le ganglion ne présente aucune tendance à la suppuration.

Du ganglion, il gagne le tissu conjonctif circonvoisin. — Avant même d'avoir atteint un sérieux développement, l'infection, dépassant les limites du ganglion, s'étend de proche en proche; les cellules parasitées vont se loger dans les espaces lymphatiques du tissu conjonctif et y constituent de petits nodules qui continuent à essaimer autour d'eux. Le tissu conjonctif distendu, non seulement ne laisse plus de liberté aux organes qu'il enferme, mais il les comprime et en amène l'atrophie.

Mamelle. — La glande mammaire voisine est vite atteinte, le tissu conjonctif interlobulaire s'infiltre de cellules migratrices parasitées, s'épaissit, et les éléments glandulaires comprimés s'atrophient et disparaissent.

Muscles. — Le même phénomène se passe du côté des muscles. Les muscles peauciers sont infiltrés les premiers, mais ensuite la maladie gagne en profondeur. Elle se répand dans les muscles abdominaux, thoraciques et même dans les muscles moteurs des membres. Les fibres musculaires s'écartent et s'atrophient par suite du développement excessif du tissu conjonctif interfasciculaire. C'est ce processus de raréfaction des fibres par compression que nous avons observé dans tous les cas; nous n'avons pas, comme Stefansky, George Dean, Alexandrescu, constaté l'envahissement de la fibre striée elle-même. La destruction des muscles moteurs entraîne une impotence fonctionnelle telle que dans certains cas le rat lépreux se meut difficilement et peut être capturé à la main.

Tissu sous-cutané. — Mais c'est du côté du tissu conjonctif sous-cutané et du côté du derme que l'envahissement microbien est le plus accentué. Les bacilles y sont amassés en nodules énormes, comme dans les ganglions lymphatiques. Leur disposition rappelle de très près ce qui se passe chez l'homme dans la lèpre. Les espaces lymphatiques du tissu conjonctif lâche sont non seulement distendus, mais le tissu lui-même se transforme; il devient dur, fibreux, cicatriciel; il présente le caractère succulent et lymphoïde d'un ganglion sclérosé. Gorgé de leucocytes parasités, il renferme aussi nombre de cellules fixes chargées de bacilles. C'est là une constatation qui ne doit guère surprendre, car les grands mononucléaires et les cellules conjonctives ont la même origine et les mêmes fonctions.

L'infection s'étend de proche en proche autour du ganglion et aussi du point d'inoculation. Elle arrive à provoquer le développement d'un véritable plastron qui double la peau et dans lequel toute trace de tissu graisseux a disparu.

Derme. — Dans le derme, l'infection débute par le tissu conjonctif lâche périvasculaire. Les cellules infectées se disposent

autour des vaisseaux, qu'elles enlacent dans de véritables manchons où les bacilles abondent. Les glandes qui sont logées dans ces organes tous irrigués sont nécrosées par les nodules lépreux. De ce fait, elles se trouvent mal nourries et finissent par s'atrophier. Nous n'avons jamais vu de bacilles dans l'intérieur des glandes ou des cellules glandulaires.

Les follicules pileux sont agglutinés comme les glandes sébacées. C'est à leur atrophie que sont dues les plaques alopéciques dont sont porteurs les animaux malades.

Épiderme. — Les cellules migratrices parvenues envahissent de bonne heure la couche papillaire du derme et s'étendent comme un tapis au-dessous de la couche germinative de l'épiderme. Quelques-unes se glissent entre les cellules de Malpighi, pénètrent même à leur intérieur et, en tout cas, les infectent.

Il n'est pas rare de voir certaines régions de l'épiderme dans lesquelles presque toutes les cellules des diverses couches contiennent des bacilles en plus ou moins grand nombre. Mais la cellule de Malpighi résiste moins fortement à cette infection que la cellule endothéliale, elle meurt et se détruit. C'est à cette nécrose que sont dus les ulcères observés chez les rats lépreux.

Intégrité relative des viscères. — L'envahissement successif du tissu conjonctif se produit très lentement et il faut réellement plus d'une année pour qu'il prenne le développement dont nous venons de parler. En général, l'animal malade meurt d'une maladie intercurrente avant que l'infection soit aussi étendue. Rarement on trouve un tel pullulement de bacilles considérables du foie, de la rate ou du système nerveux. Ce qui on rencontre parfois, ce sont de petits nodules dans le foie. Le rein, le rein ou la vessie : Mc Coy, en particulier, a insisté sur ces lésions prétendues. Mais ordinairement ces organes sont macroscopiquement indemnes. Entre eux et l'infection, le poumon joue le rôle de tampon.

Rôle protecteur du poumon. — Il arrête les bacilles qui ont pénétré dans le système circulatoire sanguin. C'est par quel mécanisme.

De bonne heure le poumon reçoit des bacilles par deux voies :

1° *La voie sanguine.* — Les cellules jeunes renfermant peu de bacilles et par conséquent mobilisables, se trouvent parfois en pénétrant dans les sinus des ganglions lymphatiques, entraînées par le torrent circulatoire et dirigées vers le poumon avec le sang de la petite circulation ;

2° *La voie lymphatico-sanguine.* — Il s'échappe aussi par les voies lymphatiques efférentes quelques leucocytes parasités, qui par les veines lymphatiques ou le canal thoracique aboutissent au poumon.

Aussi cet organe renferme-t-il toujours des bacilles acido-résistants, même dès le début de l'infection. C'est en particulier dans les sommets qu'il faut les chercher. Il nous est arrivé maintes fois d'en rencontrer dans cette région du poumon, alors que nos recherches dans les lobes inférieurs demeuraient vaines. Des frottis de pulpe permettent de juger de leur abondance et les coupes montrent leur siège. Là comme ailleurs, les bacilles sont toujours intracellulaires, inclus dans les phagocytes spéciaux du poumon, les cellules à poussières. Mais, quel que soit le stade de la maladie auquel on fasse cet examen, leur nombre n'est jamais considérable et on ne voit pas comme ailleurs se former de nodules dans cet organe. Les cellules parasitées restent toujours isolées.

Elles gagnent individuellement les ganglions de la région, les ganglions médiastinaux qu'on trouve toujours malades.

L'infection rencontre donc là une nouvelle barrière à son extension et elle y demeure cantonnée longtemps avant de diffuser par ailleurs. Sans doute ce système défensif n'est pas parfait. Il se trouve parfois en défaut, et quelques bacilles échappent à cette sorte de filtre. D'autre part, il arrive un moment où il est débordé.

Mais il est certain qu'il oppose, pour un temps, un solide obstacle à la diffusion microbienne.

Le même phénomène intervient sans doute aussi dans la tuberculose, mais avec beaucoup moins de succès parce que le bacille de Koch est toxique et entrave très vite la mobilité cellulaire. Les leucocytes chargés de microbes ne quittent pas le poumon, où ils deviennent le centre d'un tubercule.

Inoculations expérimentales.

Stefansky, Lydia Rabinowitch n'ont pas pu transmettre la maladie par inoculations. G. Dean, plus heureux, a contaminé des rats blancs. Après lui, Mc Coy, Alexandrescu et d'autres ont également réussi.

Nous avons constaté que, loin d'être difficile à inoculer, la lèpre du rat est, au contraire, d'une diffusion particulièrement commode. La raison des insuccès des premiers auteurs réside dans l'observation trop peu prolongée des animaux d'expérience. La multiplication des germes se fait très lentement dans l'organisme des rongeurs infectés et parfois même avec une lenteur singulière. Elle n'est décelable qu'après deux ou quatre mois et même parfois plus encore.

Lorsqu'on introduit dans le péritoine de grosses quantités de bacilles, on voit se développer des infections massives, comme celles qu'a produites G. Dean et dont nous possédons, grâce à l'obligeance de ce savant, un remarquable échantillon.

Mais ces injections copieuses, qui avaient leur importance quand il s'agissait de prouver que la maladie est transmissible d'animal malade à animal sain, ne présentaient, pour nous qui avions un tout autre objectif, qu'un intérêt secondaire.

Par la voie sous-cutanée, nous sommes parvenus sans peine à infecter des rats sains.

Les rats blancs sont aussi sensibles que les rats gris. — Pour nos premières expériences, nous avons employé des rats d'égouts. En les choisissant jeunes, nous croyions nous mettre à l'abri d'infections spontanées; mais, devant les observations qu'il nous a été donné de faire ensuite, nous avons dû renoncer à nous en servir. De très jeunes animaux ont été reconnus infectés; d'autre part, la proportion élevée des malades, dans certains lots, ne permettait plus de tabler sur un taux à peu près constant de 5 p. 100 pour les contaminations naturelles. Les rats blancs d'élevage ont donc remplacé les rats sauvages dans nos expériences et, contrairement d'ailleurs à ce que nous pensions, se sont montrés aussi sensibles qu'eux à la maladie.

Insertion sous la peau de tissu infecté. — Au début de nos recherches sur l'aptitude des rats à prendre la lèpre par inoculations discrètes, nous restions encore impressionnés par les insuccès des premiers expérimentateurs.

Aussi, la première méthode que nous ayons employée avait-elle pour but de protéger temporairement des phagocytes les bacilles introduits sous la peau. Elle permettait aux germes de vivre un certain temps dans un milieu de culture auquel ils étaient habitués et d'acquérir, pensions-nous, une résistance suffisante aux moyens défensifs de l'organisme. Elle consistait à insérer dans le tissu conjonctif, par une boutonnière faite à la peau, un fragment de tissu renfermant beaucoup de bacilles A. R. (1) et fraîchement retiré d'un rat malade.

L'expérience que nous rapportons ci-dessous a été faite à la fois sur des rats gris et des rats blancs. Elle permettra d'apprécier la sensibilité relative des deux espèces.

Exp. I. — Un rat gris, mort récemment de mort violente, porte dans l'aine gauche un énorme ganglion contenant de très nombreux A. R. De petits fragments, de la taille d'un grain de millet, en sont découpés et insérés par une boutonnière sous la peau du ventre de 6 rats blancs et de 8 rats gris. L'inoculation est faite le 26 juillet 1909.

Le 27 août, un rat gris est tué accidentellement au moment de l'examen. On ne trouve à l'autopsie aucune trace du fragment introduit. Il y a de rares A. R. dans les ganglions inguinaux droits et gauches.

Le 28, un deuxième rat gris est trouvé dans la cage, mort et en partie dévoré. On peut néanmoins faire quelques frottis d'un ganglion dans lequel on trouve un petit nombre de bacilles de Stefansky.

27 septembre. — Un troisième rat gris est mort. Pas d'A. R., pas de traces du matériel d'inoculation.

28 septembre. — Un quatrième rat gris est mort et ne renferme pas non plus de bacilles.

13 octobre. — Cinquième rat mort. Pas d'infection.

14 octobre. — Sixième rat gris. Pas d'infection.

27 octobre. — Septième rat gris, sacrifié. Au point d'inoculation, se trouve une plaque de tissu fibro-conjonctif assez épaisse dans laquelle se rencontrent des masses considérables de bacilles A. R. Les ganglions inguinaux renferment aussi un petit nombre de bacilles.

11 mars 1910. — Le dernier rat gris est mort. Au point d'inoculation s'est développé un nodule de tissu conjonctif infiltré de nombreux bacilles. La peau est ulcérée par-dessus. Des bords de l'ulcère, par grattage et frottis, plusieurs préparations sont faites qui renferment de nombreux bacilles. Les

(1) Nous emploierons souvent dans le cours de ce mémoire la formule abréviative A. R. pour *acido-résistant*,

éléments microbiens existent en grand nombre aussi dans les ganglions. Il n'y a pas de généralisation de la maladie.

Le premier rat blanc meurt le 25 novembre 1909. Au point d'inoculation, tissu conjonctif épaissi, chagriné, chargé de cellules migratrices pleines d'A. R. Les ganglions de la région ne sont pas perceptibles; on les trouve à l'autopsie très petits, de la grosseur d'une tête d'épingle; ils ne renferment que très peu de bacilles.

18 décembre. — Un deuxième rat blanc est sacrifié. Nombreux bacilles au point d'inoculation, au milieu d'une plaque épaisse de tissu conjonctif. Ganglions très petits, renfermant très peu d'A. R.

26 décembre. — Troisième rat blanc trouvé mort dans la cage et complètement putréfié. A. R. au point d'inoculation.

28 décembre. — Quatrième rat blanc mort. Au point d'inoculation, nodule de tissu conjonctif, dur et noirâtre, très riche en bacilles. Ganglions peu infectés.

3 février 1910. — Cinquième rat blanc mort. A. R. nombreux au point d'inoculation. Ganglions très petits, avec quelques bacilles seulement.

6 février 1910. — Le sixième rat blanc meurt. Nodule au point d'inoculation volumineux et bourré d'A. R. Quelques bacilles dans les ganglions de l'aine et dans ceux de l'aisselle.

En somme, des 14 rats inoculés, 8 gris et 6 blancs, 10 se sont infectés. L'insertion d'un fragment de ganglion infecté dans le tissu conjonctif sous-cutané devient donc, dans la plupart des cas, le point de départ d'une infection qui, à la vérité, ne montre pas de tendances envahissantes. Il se fait une sorte de culture *in situ*, derrière une barrière de cellules épithélioïdes dont l'accumulation donne naissance à un nodule parfois volumineux. Les ganglions de la région sont atteints tardivement et ne deviennent le siège d'une forte infection que lorsque le nodule a pris assez de développement pour arriver au voisinage du paquet ganglionnaire.

En général, les rats meurent avant que la maladie ait fait de tels progrès. On a de la peine à conserver quelques-uns de ces rongeurs en cage pendant plus d'un an. Ils finissent par succomber presque tous à une sorte de pseudo-tuberculose qui débute de façon insidieuse et se transmet avec une singulière facilité.

Dans cette expérience, comme dans toutes celles où les deux espèces ont été employées concurremment, les rats blancs se sont montrés plus sensibles que les rats gris. Tous se sont infectés, alors que 4 rats gris sont morts sans qu'on ait pu trouver chez eux le moindre bacille. A l'autopsie, les A. R. étaient rencontrés en nombre colossal dans le nodule d'inoculation; on n'en trouvait ailleurs que dans les ganglions et en très petit nombre. Au lieu de ces foyers compacts qui existent toujours dans la lèpre spontanée, on ne voyait que des cellules isolées renfermant quelques bacilles.

Injection sous-cutanée de suspension bacillaire. — Puisque les rats d'expérience se montrent si sensibles, il n'était donc point nécessaire de s'entourer de précautions spéciales pour assurer l'infection. En effet, l'inoculation sous-cutanée d'un peu de liquide obtenu par broyage de ganglions infectés en eau physiologique stérile a donné des résultats aussi constants que l'insertion d'un fragment sous la peau. Dans ce cas, l'infection n'est pas toujours très marquée au point d'inoculation, mais elle gagne vite les ganglions qu'on trouve presque farcis de bacilles.

Nous donnons l'expérience suivante à titre d'exemple :

Exp. II. — 21 juin 1910. Un rat d'expérience est sacrifié. Il porte un ganglion inguinal rempli de bacilles A. R. Ce ganglion est broyé en eau physiologique et donne par dépôt rapide une suspension louche où les bacilles sont très abondants. 8 petits rats blancs sont inoculés sous la peau du dos au voisinage de la base de la queue, avec une goutte de ce liquide.

27 juillet. — Un rat meurt de pseudo-tuberculose. Au point d'inoculation, pas d'A. R. On en trouve quelques-uns dans le ganglion inguinal du côté droit.

15 septembre. — Un deuxième rat succombe. A. R. rares au point d'inoculation, nombreux dans les ganglions inguinaux.

20 septembre. — Mort de trois rats. L'un renferme de nombreux A. R. dans les ganglions. Le deuxième en présente de très nombreux dans les ganglions et au point d'inoculation. Le troisième, très peu dans les ganglions, pas du tout au point d'inoculation.

27 septembre. — Un sixième rat trouvé mort renferme beaucoup d'A. R. dans les ganglions inguinaux et pas du tout au point d'inoculation.

1er octobre. — A. R. très nombreux dans les ganglions inguinaux du septième rat; très nombreux aussi au point d'inoculation et dans le tissu conjonctif de la région abdominale jusqu'au voisinage de la ligne blanche.

11 octobre. — Le dernier rat meurt. Il porte des ganglions inguinaux volumineux des deux côtés. Dans les frottis, on trouve des A. R. à droite et à gauche, mais alors qu'ils sont rares à gauche, ils sont très nombreux à droite. Rien au point d'inoculation.

Cette expérience montre que la phagocytose n'était pas à redouter pour le bacille et que nos premiers essais étaient entourés d'inutiles précautions. Les phagocytes manifestent à la vérité une sensibilité chimiotactique particulièrement grande vis-à-vis du bacille de Stefansky. Mais celui-ci, bien défendu par sa cuirasse cireuse, tire plutôt un bénéfice de cette sensibilité, comme de la mobilité des cellules qui servent à le répandre dans l'organisme.

C'est à la mobilité des cellules parasitées qu'il faut

attribuer cette infection rapide des ganglions superficiels et le développement si rare d'un nodule au point d'inoculation.

Inoculation par scarification de l'épiderme. — Nous avons pensé qu'en raison de cette sensibilité des phagocytes au bacille de Stefansky, il devait être possible de provoquer plus facilement encore l'infection de nos animaux. Nous nous sommes contentés de beurrer avec de la pulpe septique des scarifications de la peau. Après avoir arraché les poils sur le dos, près de la base de la queue et sur une surface équivalente à celle d'une pièce de 2 francs, nous avons pratiqué au bistouri des entailles peu profondes et avons frotté la région ainsi préparée avec un fragment de ganglion ou de tissu conjonctif renfermant de nombreux bacilles. Ce procédé d'inoculation s'est montré parfaitement efficace. Voici, comme preuve à l'appui, les résultats d'une expérience ainsi faite :

Exp. III. — 21 juin 1910. Un rat de cage 48, expérience 55, trouvé mort ce jour, porte au point d'inoculation un gros nodule bourré d'A. R. Ce nodule est broyé dans un verre avec seulement quelques gouttes d'eau physiologique. On obtient par cette trituration une pulpe assez épaisse et très riche en A. R. 6 petits rats sont frottés avec cette pulpe sur des scarifications de la peau pratiquées à la base de la queue. Ces rats sont enfermés dans deux bocaux.

20 octobre. — Un rat meurt. A l'autopsie, on constate que les lymphatiques de la mamelle sont injectés de granulations pigmentaires qui donnent à l'organe une teinte noire assez foncée et qui présentent la réaction des sels de fer avec le ferrocyanure de potassium. Ces granulations sont ovoïdes et régulières de forme et de dimensions.

Les ganglions, pigmentés aussi et de la grosseur d'un grain de millet, renferment, notamment à gauche, une très grande quantité d'A. R. Rien au point d'inoculation.

21 octobre. — Un deuxième rat est mort. A l'autopsie, on trouve les deux régions inguinales pigmentées. Des frottis de ce tissu pigmenté renferment quelques bacilles A. R. Dans les ganglions inguinaux relativement petits, les acido-résistants de chaque côté se montrent en très grand nombre. Pas d'A. R. dans les ganglions axillaires. Au point d'inoculation, pas de bacilles dans les produits de raclage de la face profonde de la peau ; nombreux au contraire dans les produits de raclage de la face externe intéressant l'épiderme et la couche superficielle du derme.

25 octobre. — Un troisième rat est mort aujourd'hui. A. R. nombreux dans les ganglions inguinaux pigmentés comme le tissu de la mamelle et légèrement augmentés de volume, nombreux aussi dans le produit de raclage de la couche superficielle de la peau au point d'inoculation.

3 janvier 1911. — Un quatrième rat est sacrifié. Il porte des ganglions assez volumineux et pigmentés comme le tissu voisin, remplis d'A. R. Au point

d'inoculation et dans toute la région qui l'avoisine, la peau est farcie d'A. R.

15 janvier. — Un rat, le cinquième, est mort. A. R. nombreux dans les ganglions inguinaux. Quelques-uns dans les ganglions axillaires.

25 janvier. — Le dernier rat est sacrifié. Les ganglions inguinaux, assez volumineux, renferment un très grand nombre d'A. R. On ne constate pas d'extension de l'infection dans le tissu conjonctif périphérique.

Comme on le voit, l'infection de tous les rats d'expérience a été obtenue, c'est-à-dire que l'inoculation dans la couche superficielle de la peau semble plus grave que l'introduction de bacilles dans le tissu conjonctif sous-cutané. Cette expérience, qui n'est qu'un exemple, a été répétée un grand nombre de fois avec le même succès.

On constate à l'autopsie que les bacilles A. R. gagnent très vite les ganglions de la région d'inoculation, où l'infection est toujours très marquée. La couche superficielle du derme contient au point d'inoculation un grand nombre d'A. R. L'épiderme est indemne et les cellules en tel état, qu'aucun signe extérieur d'infection n'est perceptible à cet endroit. La multiplication des bacilles ne s'est pas faite sérieusement en profondeur pendant le temps qu'a duré l'expérience. Les poils n'étaient nullement atteints dans leur vitalité, comme ils le sont quand le follicule est inclus dans une couche de cellules mésodermiques parasitées.

La zone de tissu conjonctif intermédiaire entre le point d'inoculation et les ganglions inguinaux n'a jamais été trouvée infectée. Il semble donc que les bacilles ne se soient pas arrêtés dans les lymphatiques qu'ils ont empruntés pour gagner le ganglion.

Pénétration des bacilles au travers de la peau fraîchement épilée. — Devant un succès si complet avec une porte d'entrée si étroite, nous avons voulu savoir si une lésion plus superficielle encore que des scarifications de l'épiderme ne suffirait pas à la pénétration des germes. Pour produire l'infection, il nous a suffi de toucher avec un tampon de coton imbibé de liquide septique la peau simplement épilée.

Exp. IV. — Les ganglions d'un rat 282 renfermant de nombreux A. R. sont broyés avec un peu d'eau physiologique et donnent un liquide louche renfermant un très grand nombre d'A. R. Avec un tampon de coton imbibé de

ce liquide, on frotte *doucement* un espace épilé de la peau de 6 rats adultes. La surface épilée, de la dimension d'une pièce de 2 francs, est située à la base de la queue. L'opération est faite le 4 décembre 1910.

18 janvier 1911. — Un de ces rats a été soigné de la gale avec une pommade au crésol et il est mort. On fait un grattage de la peau au point d'inoculation. Dans aucun des frottis, il ne se rencontre d'A. R. Cependant, dans une préparation faite avec la pulpe d'un ganglion de l'aine, l'examen microscopique décèle la présence d'un amas d'A. R.

2 mai 1911. — Un deuxième rat est sacrifié. Rien au point d'inoculation. A. R. en petit nombre dans les ganglions inguinaux.

26 mai 1911. — Un troisième rat est sacrifié. Ganglions inguinaux assez volumineux à gauche. L'examen microscopique montre qu'ils renferment beaucoup d'A. R.

23 juillet. — Un quatrième rat femelle est mort de septicémie hémorragique (accident de parturition). Il y a de très nombreux A. R. dans les ganglions inguinaux, dans le tissu conjonctif de la mamelle et dans l'épaisseur de la peau au point d'inoculation.

2 octobre. — Le cinquième rat est mort. Ulcère à A. R. au point d'inoculation. Nombreux bacilles dans les ganglions inguinaux, quelques-uns se rencontrent dans les ganglions axillaires.

28 novembre. — Le dernier rat est mort. On ne trouve d'A. R. ni au point d'inoculation, ni dans les ganglions inguinaux, mais les ganglions bronchiques en renferment en grand nombre. Quelques amas se rencontrent aussi dans le poumon.

Comme on le voit, le dépôt de bacilles sur la peau épilée donne aux rats l'infection à tout coup. Sur 6 rats inoculés de cette façon, il y a eu 6 succès.

L'infection par cette voie semble même plus sûre que par toute autre. Alors que l'inoculation sous-cutanée reste parfois infructueuse, on a par scarification ou simple épilation 100 p. 100 de succès, ainsi qu'en témoignent les expériences rapportées ci-dessus à titre d'exemples et corroborées par un grand nombre d'autres que nous trouvons inutile d'exposer aussi.

Nous n'avons pas encore pu saisir le mécanisme de pénétration des germes. C'est une question qui est à l'étude et sur laquelle nous reviendrons plus tard.

Le bacille ne traverse pas la peau saine. — Si la moindre lésion superficielle, si la plus minime érosion de l'épiderme ouvre un chemin à la maladie, il convient de dire que les cellules épidermiques en état d'intégrité lui opposent une barrière infranchissable. Huit petits rats âgés de huit jours, encore glabres, mais avec une cicatrice ombilicale parfaite, ont été

largement badigeonnés avec du liquide de broyage ganglionnaire riche en A. R. et cela sans résultat. Aucun d'eux n'a pris la lèpre, alors que d'autres animaux inoculés avec le même produit se sont infectés.

En somme, l'inoculation du bacille de Stefansky provoque facilement une infection spécifique, et elle semble d'autant plus efficace qu'elle est plus superficielle, sans d'ailleurs qu'elle puisse se faire au travers de la peau saine.

Sensibilité de la souris. — Les rats blancs ne sont pas les seuls animaux sensibles à cette infection. Nous avons reconnu qu'il était possible de la communiquer à d'autres murins : les souris blanches. Voici une expérience :

Exp. V. — Le 22 janvier 1911, un rat de l'expérience 281 est sacrifié. Les ganglions inguinaux qui renferment un assez grand nombre d'A. R. sont broyés en eau distillée stérile. Avec ce liquide, 12 souris sont inoculées : 1°, 4 par injection sous-cutanée ; 2°, 4 par badigeonnage après scarification ; 3°, 4 par badigeonnage après arrachement des poils.

Première série. 9 février. — Une souris du 1er bocal est morte. Au point d'inoculation, elle porte un abcès dans lequel on ne trouve que quelques rares A. R. Pas de bacilles de la lèpre dans les ganglions, le foie, la rate et la peau voisine du point d'inoculation.

22 février. — Une 2e souris est morte. Au point d'inoculation se trouve du tissu conjonctif pigmenté, avec une tache un peu plus noire qui marque le point précis où a été faite l'injection. De nombreux bacilles infiltrent tous ces tissus. Pas d'A. R. dans les ganglions, le foie et la rate.

13 juin. — Un mâle du bocal I est sacrifié. Il porte de gros ganglions dans lesquels on rencontre beaucoup de cellules parasitées. Il y a des foyers très nets renfermant quelques cellules géantes.

20 novembre. — La dernière souris du 1er bocal meurt. Elle porte à la paroi abdominale, au voisinage de la région inguinale droite et s'étendant le long du pubis jusqu'à la région inguinale gauche, une vaste tumeur mamelonnée et composée de trois lobes ayant chacun le volume d'une noisette. Cette tumeur est formée de tissu lymphoïde et constitue un vaste nodule bourré d'A. R. Les ganglions inguinaux renferment beaucoup de bacilles. On n'en trouve ailleurs ni dans la peau, ni dans les organes.

Deuxième série. 1er mars 1911. — Le 1re souris du 2e bocal est morte. Quelques bacilles au point d'inoculation, rien dans les ganglions inguinaux.

16 juin. — Une femelle est sacrifiée. Au point d'inoculation, comme dans le ganglion inguinal droit, on trouve un gros bacille acido-résistant en navette, présentant souvent un espace clair central. Dans certains amas, quelques éléments contiennent un granule ou deux qui retiennent plus fortement la matière colorante rouge. Rien au point d'inoculation.

31 octobre. — Un mâle du bocal 2 est mort. Deux gros ganglions inguinaux sont bourrés de bacilles acido-résistants typiques. Sur le dos la souris porte un large ulcère, dans les parois duquel se trouvent des bacilles en

navette semblables à ceux qui ont été découverts dans la souris précédente.

6 novembre. — La dernière souris du 2e bocal est morte. Les ganglions inguinaux assez volumineux sont bourrés de bacilles A. R. typiques. Les bacilles sont nombreux aussi au point d'inoculation. Rien dans les ganglions axillaires, ni dans la rate.

Troisième série. 2 mai 1911. — La 1re souris du 3e bocal meurt ce jour. Elle porte des ganglions inguinaux assez volumineux. On n'y trouve pas d'A. R.

24 août. — Une 2e souris est morte. Dans le ganglion inguinal gauche se trouvent de nombreux A. R. en navette semblables à ceux qui ont été décrits plus haut. Rien dans le ganglion inguinal droit.

31 août. — Les deux dernières souris du 3e bocal sont sacrifiées. Nombreux amas de bacilles en navette.

Les souris peuvent donc prendre la lèpre. Mais elles y sont cependant moins sensibles que les rats. Même quand le nombre des bacilles est très grand, alors qu'ils amènent la formation de volumineux nodules, ils ne se répandent pas dans tout l'organisme, comme chez les rats.

Formes d'involution chez la souris. — Quand l'inoculation est superficielle, l'infection, loin d'être plus sûre comme chez le rat, manque souvent et, en tout cas, reste toujours discrète. Les bacilles subissent même une involution qui les rend méconnaissables. Et nous ne les aurions pas reconnus, si nous ne les avions observés dans presque toutes les souris inoculées par scarification ou épilation.

Chose curieuse, nous avons trouvé des bacilles semblables dans les ganglions inguinaux de rats inoculés avec des bacilles de lèpre humaine. Cette observation semblerait indiquer que les rats présentent à la lèpre humaine une sensibilité atténuée. En tout cas, cette sensibilité est moins grande que celle des souris à la lèpre murine, car nous avons inoculé des centaines de rats avec des bacilles humains; nous les avons tous autopsiés, et si, chez quelques-uns, nous avons trouvé ces formes d'involution, jamais nous n'avons vu de bacilles typiques. Cette similitude d'involution peut sans doute être regardée comme un point de rapprochement entre les deux germes.

Insensibilité des autres animaux de laboratoire. — Alexandrescu a inoculé avec succès des cobayes. Nous avons essayé d'infecter plusieurs de ces animaux, mais en vain.

Nous n'avons pas mieux réussi avec un singe.

En somme, la lèpre murine est une maladie spécifique aux rats. Si on réussit à la communiquer à la souris, espèce voisine, elle n'y prend jamais un développement considérable. Cette spécificité est importante à considérer et à rapprocher de celle du bacille humain.

Le Bacille.

Le bacille découvert par Stefansky est, nous l'avons dit, d'une extraordinaire abondance dans les tissus malades.

Réactions colorantes. — Un frottis de pulpe ganglionnaire, un raclage de la peau, au voisinage d'un nodule ou d'un ulcère, renferme une quantité énorme de germes libres où intracellulaires. Si l'on colore rapidement ce frottis par une couleur basique quelconque en solution hydroalcoolique, tous ces bacilles se détachent en négatif sur le fond teint, par le violet de gentiane par exemple. Il faut, pour les mettre en évidence, faire agir comme pour le bacille de Hansen, la solution phéniquée de fuchsine à la température de 50 à 80 degrés. Ils résistent ensuite à la décoloration par les acides aussi bien et même mieux que le bacille de la lèpre humaine; l'acide azotique au dixième, l'acide sulfurique au quart, l'alcool chlorhydrique à 3 p. 100 n'en altèrent pas la couleur rouge vif. On les voit se détacher avec la plus grande netteté sur le fond coloré par le bleu de méthylène. Nous employons, d'ordinaire, une solution étendue de bleu borate qui a l'avantage de colorer en quelques secondes.

En définitive, le bacille de Stefansky prend le Ziehl plus vite que le bacille de Koch et résiste à la décoloration mieux que le bacille de Hansen débarrassé de sa gangue glaireuse (1). Il prend le gram.

Résistance des germes à la digestion phagocytaire. — Les cellules qui logent le bacille sont, comme nous l'avons dit,

(1) Voir à ce propos, E. Marchoux, culture d'un bacille acido-résistant provenant du mucus nasal des lépreux. *Bull. de la Soc. de Path. exot.*, t. IV, 1911, p. 89.

des cellules mésodermiques. Ce sont des leucocytes mononucléaires ou macrophages de Metchnikoff. Ce parasitisme des cellules de défense ne vient point à l'encontre de la théorie phagocytaire de l'immunité. Les phagocytes, ici, comme toujours, remplissent exactement leur rôle; ils s'emparent des germes et les isolent de l'organisme. Nous avons déjà fait ressortir la sensibilité chimiotactique très grande qui les attire vers le bacille de Stefansky. Mais leur pouvoir digestif se heurte à un très sérieux obstacle : la capsule cireuse qui entoure ce parasite spécial. Si la théorie de Metchnikoff avait encore besoin d'être défendue, elle trouverait en ces faits un sérieux appui et une preuve démonstrative que les phagocytes ingèrent les microbes vivants. Mais rien n'est parfait. Si bien réglées que soient les fonctions organiques, elles peuvent se trouver en défaut. Ici, les qualités mêmes des cellules phagocytaires servent au microbe. Sa résistance aux sucs digestifs met à son service la sensibilité chimiotactique des leucocytes pour favoriser son introduction et leur mobilité pour opérer sa diffusion dans l'organisme.

Les phagocytes ne sont cependant pas totalement désarmés contre lui. Nous voyons, au contraire, assez souvent, des bacilles devenus granuleux qui ont, par conséquent, mal résisté à leur action. Mais ce sont là des faits exceptionnels, il faut bien le reconnaître.

Absence de propriétés toxiques. — En général, le bacille de la lèpre du rat, comme celui de la lèpre humaine, vit et se multiplie dans la cellule phagocytaire qui, d'ailleurs, n'en paraît pas très fâcheusement influencée. Il ne s'agit pas là d'une infection à proprement parler, mais d'un véritable parasitisme. Le microbe ne se nourrit pas de la substance propre de la cellule, mais des mêmes substances qu'elle-même; aussi elle augmente de volume pour satisfaire à ses propres besoins et à ceux de son hôte.

Comparaison avec le bacille de Hansen. — Les mêmes phénomènes se passent dans la lèpre humaine, avec quelques variantes peu importantes; mais ils y sont moins perceptibles que dans la maladie du rat, qu'on peut reproduire expé-

rimentalement chez les animaux de laboratoire. Si les deux maladies se ressemblent, les bacilles qui causent chacune d'elles sont très voisins. Par le nombre des éléments qui s'amassent dans les tissus, le bacille de Stefansky se rapproche du bacille de Hansen; il s'en distingue par ses caractères de groupement. Comme celui-ci, il est toujours intracellulaire; les germes qu'on trouve disséminés dans la préparation proviennent des cellules détruites, comme les coupes permettent de s'en rendre compte. Les cellules parasitées sont particulièrement fragiles et résistent mal aux dommages du frottis. Mais on en trouve néanmoins toujours quelques-unes qui sont intactes et permettent de voir que les microbes sont disposés dans le protoplasma sans ordre et non pas rangés en paquets de cigares comme les bacilles de Hansen. Les bacilles de Stefansky ne sont pas, comme ceux de la lèpre humaine, entourés d'une gangue muqueuse; ils ne se disposent jamais en globies.

Ce caractère distinctif n'a peut-être pas, il est vrai, une très grande valeur, car il est impossible, actuellement, de décider si cette sécrétion glaireuse, cette glée, est d'origine microbienne ou provient de la cellule qui limite ainsi l'envahissement parasitaire. L'impossibilité d'inoculer la lèpre humaine aux animaux recule indéfiniment la solution de ce problème.

En général, les éléments mesurent de 3 à 5 μ de longueur sur 1/2 μ de largeur. Mais ces dimensions, si elles sont ordinaires, ne sont point constantes. Il est commun, au contraire, de rencontrer des germes plus longs et légèrement incurvés avec un bouton terminal à une extrémité. Dans chaque groupe bacillaire, il y a au moins un individu qui présente ces caractères.

Parfois le bacille de la lèpre du rat, comme son congénère humain, devient granuleux et prend cette disposition en chaînette, en coccothrix de Unna. Il y a même des cas où presque tous les bacilles ont cet aspect. Nous pensons qu'il s'agit non pas d'un stade particulier d'évolution, mais d'un processus de dégénérescence. Nous aurons occasion d'en donner plus loin des preuves évidentes.

Lydia Rabinowitch, qui a une connaissance si grande des acido-résistants, a reconnu que ce bacille se distingue très nettement de tous ceux qu'on obtient en culture. Il a, au con-

traire, une étroite ressemblance avec le bacille de la lèpre humaine. L'un et l'autre ont, dans l'organisme, le même habitat, causent une maladie du même genre, à incubation longue et à marche très lente. L'un et l'autre restent toujours contenus dans les cellules où ils se multiplient sans paraître fabriquer de substance toxique. Ni l'un ni l'autre n'a encore été sûrement obtenu en cultures successives *in vitro*.

Leur parenté est très grande, et on pourrait dire que la lèpre du rat est à la lèpre humaine comme la tuberculose aviaire est à la tuberculose de l'homme.

Commencement de culture et impossibilité de repiquage. — Tous les auteurs qui ont essayé de cultiver le bacille de la lèpre du rat n'y sont pas parvenus (1). Nous n'avons pas eu, dans nos tentatives, beaucoup plus de succès qu'eux.

Comme pour le bacille de Hansen, on obtient assez facilement une multiplication dans les tissus qui contiennent déjà des germes, mais il est impossible de transporter cette culture sur un autre milieu, ou même sur un fragment sain du même tissu. Si on enlève aseptiquement un ganglion inguinal chez un rat qui est au début de l'infection et qu'on le porte sur un culot de gélose nutritive, il se fait dans ce ganglion, en quelques semaines, une véritable culture. Le nombre des bacilles acido-résistants y croît dans des proportions colossales; il est facile de s'en rendre compte en coupant ce ganglion, ainsi qu'un autre du même rat, fixé au moment de l'extirpation. Dans le témoin, quelques rares cellules renferment des amas de bacilles acido-résistants. Ces cellules disséminées ne sont pas réunies en foyers compacts. Deux, trois cellules par place forment les groupes les plus considérables. Des coupes entières ne contiennent pas de microbes.

Dans le ganglion placé à l'étuve à 37 degrés, les germes se sont abondamment multipliés. Il est difficile de dire si cette multiplication s'est faite dans la cellule ou dans les espaces intercellulaires, car la plupart des éléments cellulaires sont autolysés. Les bacilles se sont, en réalité, développés dans le proto-

(1) Bayon, au contraire, l'aurait cultivé assez facilement. *Transac. Soc. of Trop. med.*, t. V, nº 5, p. 166.

plasma fusionné par disparition des membranes d'enveloppe. En tout cas, la comparaison des deux ganglions prouve qu'il s'agit ici d'une véritable culture et non point d'amas rassemblés après destruction du tissu. Entre les noyaux, on voit serpenter des chaînes de bacilles acido-résistants, constituées par des filaments beaucoup plus longs que le diamètre d'une et même de plusieurs cellules. Ces chaînes de 2, 3, 4 ou 5 files de bacilles placés bout à bout, se séparent parfois en Y et se rejoignent ensuite après avoir contourné un noyau. Il existe aussi, par places, des amas volumineux, de véritables colonies.

Ce phénomène a été observé à plusieurs reprises; il se produit, quelle que soit la nature du liquide contenu dans la gélose, dont l'unique rôle semble être de servir de support humide.

En portant un fragment de ganglion-culture sur un morceau de rate de rat stérilisée à 110 degrés et ayant subi un commencement de digestion par la trypsine, nous avons vu se former, au moins à la surface, de petites colonies microscopiques, chétives, et montrant peu de tendance à l'extension. Le transport de ces colonies sur nouvelle rate n'a pas été possible.

La culture commence assez vite, en moins de huit jours, et s'arrête rapidement. Au bout d'un mois et demi, les bacilles dégénèrent et deviennent granuleux. Ils sont morts, comme nous l'ont prouvé nos essais d'inoculations infructueux.

Le transport de la première culture en ganglion sur ganglion neuf, prélevé aseptiquement et non chauffé, sur fragment de rate recueilli dans les mêmes conditions, n'a donné lieu à aucun développement sur ces organes qui se sont montrés, en définitive, moins bons milieux que la rate chauffée à 110 degrés.

Le bacille dégénère en cultures impures. — La culture en milieu impur ayant donné, apparemment, à l'un de nous d'excellents résultats pour la multiplication en dehors de l'organisme du bacille de la lèpre humaine, il était indiqué d'appliquer le même procédé au germe de la lèpre du rat. Nos essais ont totalement échoué. Non seulement le bacille de Stefansky n'est pas favorisé par le voisinage d'autres germes,

mais il est rapidement submergé par eux. Il subit une lyse rapide. Des cultures mixtes inoculées après cinq et douze jours n'ont pas donné d'infection.

Il ne résiste pas à la dessiccation. — A défaut de cultures, la quantité énorme de bacilles qu'on peut recueillir sur certains animaux nous a permis de faire quelques recherches sur les propriétés de ce microbe et en particulier sur sa résistance à la dessiccation et à la chaleur. De 33 rats inoculés avec du matériel desséché sous le vide sulfurique, aucun ne s'est infecté. Chez 2 d'entre eux, on a trouvé, au point où on les avait mis et encore trois mois après l'inoculation, des bacilles granuleux qui, inoculés à d'autres animaux, n'ont donné lieu à aucune infection. Ils étaient donc morts.

Il ne supporte pas plus de 5 minutes un chauffage à 60 degrés. — Pour mesurer la résistance à la chaleur, nous avons introduit dans des tubes capillaires, fermés à la lampe aux deux bouts, un peu de matériel broyé en eau physiologique et très riche en acido-résistants.

Ces tubes ont été plongés dans un bain-marie à 60 degrés, les uns pendant 5 minutes, d'autres pendant 15 minutes, et les derniers pendant une demi-heure.

L'inoculation a été faite dès la sortie du bain-marie à des rats blancs.

Le matériel, chauffé 5 minutes, a infecté 4 rats sur 8; mais il est bon d'ajouter que les 4 premiers rats sont morts trop vite pour que chez eux la maladie ait eu le temps de se développer.

Les tubes chauffés plus longtemps n'ont provoqué aucun accident chez les rats qui les ont reçus.

Nous pouvons donc dire que le bacille de Stefansky résiste pendant 5 minutes à 60 degrés et qu'il meurt à la même température, quand on l'y maintient pendant un quart d'heure.

Conclusions.

1° A Paris, comme à Odessa, 5 p. 100 des rats d'égouts sont porteurs de bacilles de Stefansky. On ne trouve que 0,60 p. 100 de rats lépreux;

2° Les ganglions inguinaux sont en général les premiers pris;

3° Le poumon forme une sorte de filtre qui arrête les germes et les dirige vers les ganglions médiastinaux;

4° Le dépôt des germes sur des scarifications de l'épiderme ou simplement sur la peau épilée donne plus sûrement une infection aux rats d'expérience que l'inoculation sous-cutanée;

5° La peau intacte, même celle encore glabre, de petits rats de quelques jours s'oppose à la pénétration des microbes;

6° La lèpre de Stefansky est une maladie spécifique du rat.

Les souris peuvent être infectées, mais moins facilement que les rats. L'infection par la peau épilée ou scarifiée manque plus souvent que l'inoculation sous-cutanée. On trouve chez elles des formes d'involution de bacilles comparables à celles qu'on rencontre chez les rats inoculés de lèpre humaine;

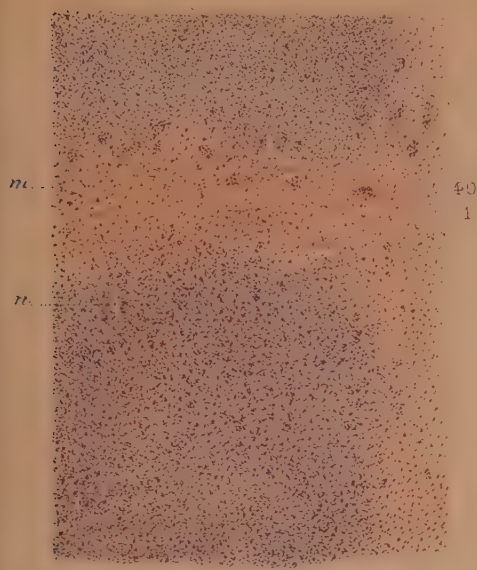
7° Le bacille de Stefansky, *Mycobacterium lepræ murium*, comme celui de Hansen, est un parasite des cellules mésodermiques. Il ne vit pas aux dépens de la cellule hôte, mais des mêmes substances qu'elle;

8° Les bacilles granuleux sont morts;

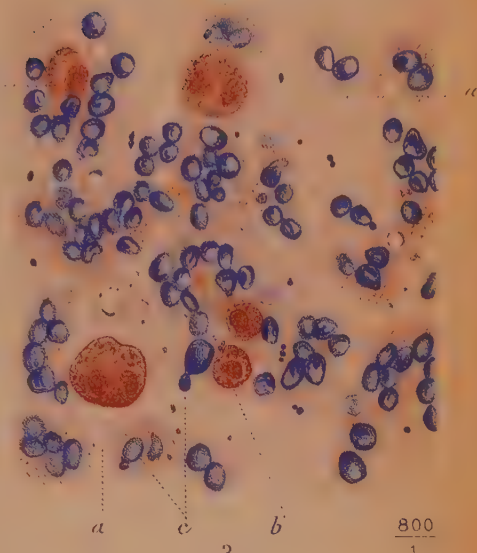
9° Une première culture est relativement facile à obtenir. La difficulté commence quand on veut la repiquer;

10° Le bacille succombe rapidement en milieu impur;

11° Il ne résiste pas à la dessiccation.

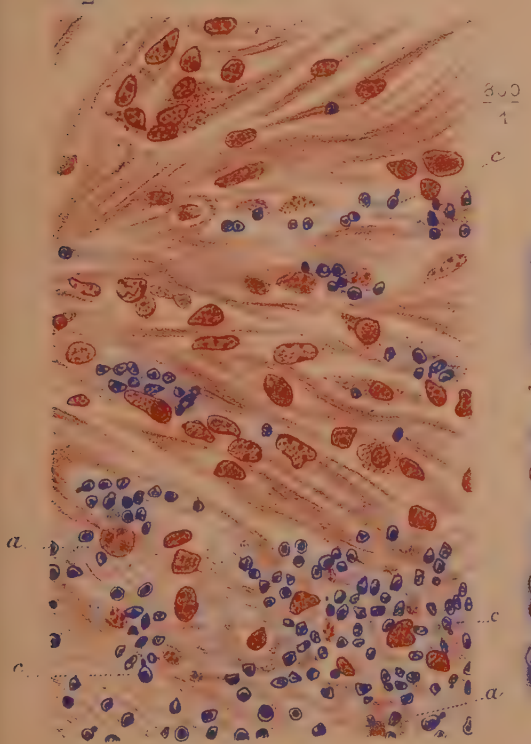


1

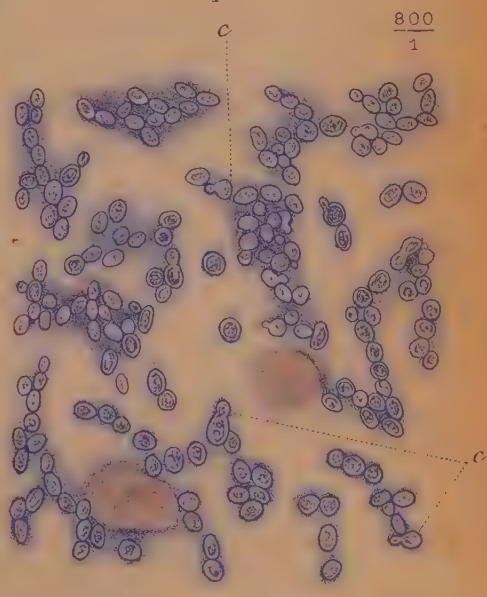


3

2



4



V. Roussel del. et lith.

Imp. L. Lafontaine, Paris

RECHERCHES
SUR LA LYMPHANGITE ÉPIZOOTIQUE EN ALGÉRIE

par J. BRIDRÉ, L. NÈGRE et G. TROUETTE

(Institut Pasteur d'Algérie.)

(Avec la Pl. XVII.)

Nos recherches ont eu pour but d'éclaircir l'étiologie et la pathogénie encore obscures de la maladie, d'établir la nature de son agent spécifique et de trouver un traitement efficace.

Malgré le travail de plusieurs années, nous n'avons pu réaliser, jusqu'à présent, qu'une faible partie de notre programme. Nous nous contenterons d'exposer ici nos observations et nos expériences, en cherchant à tirer des résultats obtenus les conclusions qu'ils comportent.

L'étude clinique fournit des renseignements précieux et, sans nous étendre sur la description déjà faite dans maints ouvrages des symptômes de la lymphangite épizootique, nous commencerons ce mémoire par un tableau succinct de la maladie telle que nous l'avons observée en Algérie.

Parmi les nombreuses dénominations qui servent à désigner la *Lymphangite épizootique*, celle de *Farcin d'Afrique* et, depuis le décret du 4 août 1907, qui en fait une maladie contagieuse légale, celle de *Lymphangite farcinoïde*, sont le plus fréquemment employées en Algérie (1).

C'est une affection suppurante et ulcéreuse, déterminée par la présence d'un parasite spécifique, *Cryptococcus farciminosus* de Rivolta.

Elle atteint souvent le cheval, plus rarement le mulet : nous ne l'avons jamais constatée chez l'âne dans les conditions naturelles, ni chez le bœuf.

(1) Les Arabes l'appellent « bou sebh'a », le père du chapelet.

On l'observe surtout dans la région du littoral, particulièrement sur les animaux des camionneurs et des jardiniers.

Début. Symptômes. — Il semble qu'une plaie préexistante sert toujours de porte d'entrée à la maladie. L'incubation n'est indiquée par l'apparition d'aucun phénomène morbide et, même à sa période d'état, la maladie ne paraît avoir aucun retentissement sur la santé générale. La plaie infectée n'a aucune tendance à la cicatrisation ; elle reste ulcéreuse, s'étend lentement en largeur tandis que ses bords s'épaississent, bourgeonnent et se renversent en forme de « cul-de-poule ». La périphérie, légèrement œdématiée, devient douloureuse.

Après un laps de temps variant de huit jours à deux mois, surviennent les accidents locaux, parfois bruyants, le plus souvent insidieux : boutons, cordes, tumeurs, engorgements. Tantôt les boutons apparaissent les premiers, tantôt les cordes les précèdent; parfois, surtout dans les régions basses du tronc, un engorgement volumineux est d'abord seul appréciable.

Ces diverses manifestations symptomatiques sont *toujours douloureuses* à la pression.

Les *boutons* ont communément la grosseur d'une noisette. Ils évoluent à la façon d'un abcès banal dont ne les différencie pas le pus auquel ils donnent écoulement. Ouverts, ils ont l'aspect en cul-de-poule et l'atonie de la plaie initiale. On les observe sur le trajet des lymphatiques qui, si l'angioleucite ne les a pas envahis les premiers, s'épaississent, s'indurent, deviennent les *cordes farcineuses* dont le diamètre varie de 1 à 5 centimètres.

Ces *cordes* sont dures, noueuses, chaudes, douloureuses. Leur progression est toujours centripète. Parties, le plus souvent, des régions inférieures des membres, elles gagnent rapidement la pointe de l'épaule, l'entrée de la poitrine, l'aine et, provoquent parfois des tuméfactions énormes des ganglions pré-pectoraux, pré-scapulaires ou inguinaux.

L'ouverture des tumeurs ganglionnaires donne écoulement à une sérosité citrine, au début, et, plus tard, à du pus jaune provenant de multiples abcès creusés en galeries dans le tissu de néoformation, abcès qui, parfois, se collectent et atteignent alors le volume du poing.

Les *engorgements* s'observent dans les régions basses des membres ou à la face inférieure du tronc. Sur les membres, ils suivent généralement l'apparition des cordes et des boutons : ils sont froids, durs, presque indolores, souvent énormes et couverts de bourgeons saillants, blafards, mollasses. Les engorgements de la face inférieure du tronc sont, au contraire, chauds, douloureux; ils ne présentent que de rares boutons caractéristiques et le trajet des cordes noyées dans la masse est difficilement perceptible.

Des accidents, boutons et cordes, peuvent également se montrer sur les muqueuses oculaire, pituitaire et labiale. Nous avons observé sur le corps clignotant d'un cheval atteint à la face, un bouton spécifique relié par une traînée lymphatique à une corde voisine qui aboutissait aux ganglions sous-glossiens.

Deux animaux (un mulet et un cheval) ont présenté avec des symptômes de lymphangite, des ulcères de la pituitaire de 0 m. 01 de diamètre, arrondis, à bords grisâtres, dont le fond était recouvert de fins bourgeons charnus : ces lésions simulaient, à s'y méprendre, le chancre morveux et le diagnostic différentiel ne put être établi qu'à l'aide de la malléine (1). Des faits semblables ont déjà été signalés par différents auteurs : Nocard (2), Pricolo (3).

Sur la muqueuse labiale, dans les lymphangites de la face, les accidents ne sont point rares et présentent, comme caractères particuliers, des boutons nombreux, rapprochés, du volume d'un pois.

Nous devons citer encore une forme peu commune de lymphangite se traduisant par des boutons répartis sur tout le corps et non reliés entre eux par des traînées lymphatiques apparentes. Enfin, nous avons observé deux fois des lésions testiculaires.

(1) La malléination de tous les chevaux atteints de lymphangite est obligatoire, en Algérie ; elle nous a permis de constater plusieurs fois la coexistence de la morve et de la lymphangite épizootique. A l'autopsie d'un cheval morveux nous avons trouvé de petits abcès pulmonaires renfermant des cryptocoques.

(2) Nocard, Sur le diagnostic de la lymphangite épizootique. *Bull. de la Soc. centr. de médecine vétérinaire*, 1891.

(3) Pricolo, Contribution à l'étude de la lymphangite épizootique. *Revue générale de méd. vétér.*, 1907, p. 457.

Marche. — La marche de la maladie est tantôt rapide, tantôt lente. Nous l'avons vue évoluer dans l'espace de huit jours : à la suite d'une blessure du jarret occasionnée par un coup de fourche, toute la région de la saphène fut occupée par une corde moniliforme, pathognomonique. Nous l'avons vue aussi progresser avec une extrême lenteur et mettre environ quarante jours pour arriver de la plaie initiale, située au-dessus du genou, au ganglion pré-pectoral (1).

Pronostic. — La lymphangite farcinoïde est une affection grave en raison de sa fréquence, de sa ténacité, de sa contagiosité, de la longue indisponibilité qu'elle entraîne et des soins dispendieux que nécessite son traitement chirurgical.

Elle est moins grave sur les chevaux de sang que sur les animaux à tempérament lymphatique. Les mulets arabes guérissent plus facilement que les mulets français.

L'âge et le siège de la lésion initiale, la forme des accidents peuvent fournir d'utiles indications sur la gravité de l'affection.

L'excision hâtive du cordon peut amener la guérison en quinze jours.

Si au contraire on attend, pour intervenir, que les cordes se multiplient, que des engorgements volumineux s'établissent, la maladie peut devenir incurable.

Quand la plaie d'entrée se trouve située sur les faces latérales du pâturon ou du boulet (2), qu'elle s'accompagne d'un engorgement rapide et douloureux du canon, on a affaire à une lymphangite tenace.

Si le cryptocoque pénètre par effraction au-dessus du genou ou du jarret, l'affection est généralement bénigne et aisément curable. Il en est de même des lésions de la tête et de l'encolure.

(1) Ces faits ont une grande importance au point de vue judiciaire : en cas de litige portant sur la vente d'animaux lymphangiteux, il est impossible de déterminer, dans la plupart des cas, la date de l'infection avec assez de certitude pour permettre à un tribunal de trancher le différend en toute équité.

(2) Nous n'avons jamais vu les plaies de la région antérieure du boulet ou du pâturon servir de porte d'entrée à la lymphangite épizootique. Ces plaies résultant d'une glissade au moment du démarrage sont cependant très communes chez les chevaux de rouliers et camionneurs.

Celles du thorax présentent un caractère particulier de gravité lorsque les cordes sont dirigées parallèlement aux côtes.

On peut considérer la guérison comme prochaine et parfaite lorsque le symptôme douleur disparaît. Toutes les fois que nous l'avons vu persister sur des animaux en apparence guéris, une rechute locale ne tardait pas à survenir.

Après guérison, l'affection ne laisse pas les animaux inutilisables malgré la persistance des engorgements du canon et des reliquats cicatriciels.

Nous n'avons jamais constaté de récidive, même lorsque les animaux guéris étaient longtemps maintenus au contact des malades.

Répartition des localisations.

Membre antérieur droit	110	233
— — gauche	109	
Les deux membres antérieurs	14	
Membre postérieur droit	28	71
— — gauche	39	
Les deux membres postérieurs	4	
Epaules	8	57
Tronc	34	
Encolure	9	
Tête	6	
Généralisation	3	3
	Total	364

Au point de vue de la *gravité de la maladie*, les 364 malades doivent être ainsi répartis :

32 ont été abattus comme incurables après une ou deux opérations ;
21 ont été abattus sans opération ;
1 a guéri sans intervention ;
310 ont été guéris après opération ou traitement.

Fréquence de la maladie suivant les écuries — Les 364 lymphangiteux appartenaient à 97 écuries renfermant un total de 1.168 animaux. Mais certaines écuries ont été particulièrement frappées ainsi :

Une écurie de	180	chevaux ou mulets	a eu	20	malades.
— —	65	— —	a eu	8	—
— —	50	— —	a eu	11	—
— —	82	— —	a eu	27	—
— —	12	— —	a eu	7	—
Total :	389	chevaux ou mulets		73	malades.

Soit : 18,76 p. 100.

Le pourcentage des malades (364) par rapport à l'effectif total (1.168) des écuries atteintes serait encore plus élevé si l'on tenait compte des nombreuses écuries ne renfermant qu'un ou deux animaux.

FRÉQUENCE DE LA MALADIE SUIVANT LES SAISONS.
(*Répartition annuelle et mensuelle.*)

	1909	1910	1911	TOTAUX	MOYENNES
Janvier . .	10	12	14	36	12 »
Février . .	12	13	12	37	12,33
Mars. . . .	14	13	13	40	13,33
Avril. . . .	15	12	15	42	14 »
Mai	8	11	11	30	10 »
Juin	8	5	6	19	6,33
Juillet . . .	1	5	6	12	4 »
Août. . . .	4	3	6	13	4,33
Septembre.	4	13	7	24	8 »
Octobre . .	9	12	7	28	9,33
Novembre .	10	15	13	38	13,66
Décembre .	12	17	16	45	15 »
	107	131	125	364	

Les chiffres qui figurent dans ce tableau représentent les cas de lymphangite épizootique signalés au service vétérinaire, sanitaire, dans la 1re circonscription (ville d'Alger). Ils nous révèlent que la lymphangite épizootique a l'allure d'une affection saisonnière : rare pendant la période chaude et sèche — mai à octobre — plus commune pendant la saison froide et pluvieuse — novembre à avril.

Anatomie pathologique. — Le simple examen macroscopique d'une *corde* excisée montre que cette corde est constituée par

du tissu fibreux entourant un canal lymphatique dont les parois épaissies se confondent avec le tissu néoformé. Si on fait glisser le doigt le long du cordon, on perçoit, de place en place, de petites nodosités de volume variable et dont le contenu a un aspect différent suivant que la nodosité est très petite et récente ou qu'elle est volumineuse et sans doute plus ancienne. Dans le premier cas, le contenu est épais, *gris rosé*; dans le second, son aspect se rapproche d'autant plus de celui du pus que la lésion a pris de plus grandes proportions.

Le microscope nous renseigne sur la cause de ces variations de caractères.

Si on examine à l'état frais le contenu gris rosé d'une nodosité de faible dimension — de la grosseur d'un gros grain de plomb à celle d'un petit pois — on a l'impression de voir une véritable colonie de cryptocoques. Parmi un amas de parasites où les formes de bourgeonnement sont nombreuses, à peine trouve-t-on quelques rares leucocytes.

L'examen microscopique du contenu des nodosités plus volumineuses montre, au contraire, que les leucocytes ont envahi la « colonie »; les formes de bourgeonnement existent encore, mais en moins grande abondance. Un certain nombre de parasites sont phagocytés. L'organisme a mis en œuvre ses moyens de défense. Plus la lésion est volumineuse, plus les leucocytes sont nombreux et plus la phagocytose est intense.

La coloration des frottis de ces produits permet de faire les mêmes constatations (pl. XVII, fig. 3 et 4). Le cryptocoque se colore assez difficilement par les méthodes ordinaires; il prend le gram, mais un grand nombre d'éléments restent incolores, lorsqu'on suit la technique usuelle. La méthode de Claudius donne d'excellents résultats : il faut prolonger pendant une heure et plus le contact avec le violet de gentiane et avec la solution d'acide picrique et bien décolorer ensuite au chloroforme : le parasite apparaît alors en bleu violet. La méthode de Dominici au bleu de toluidine et la coloration de Giemsa, avec différenciation au tannin, fournissent aussi de bons résultats.

Les coupes histologiques d'un cordon lymphatique à petits nodules offrent également un certain intérêt.

La coloration de Claudius montre chaque nodule formé par

une colonie de cryptocoques. Les parasites ont envahi tout le trajet lymphatique et un certain nombre d'éléments apparaissent libres entre les cellules conjonctives du tissu de réaction (pl. XVII, fig. 1 et 2).

Ces observations établissent que *le cryptocoque n'est pas un parasite des leucocytes* et que sa présence dans les globules blancs n'est qu'un phénomène de phagocytose.

Les auteurs qui ont fait du cryptocoque un protozoaire parasite des leucocytes ont effectué leurs prélèvements dans des foyers purulents où la phagocytose est active. Ducloux a prélevé les produits qu'il a étudiés « par ponction de boutons arrivés à maturité et par raclage de bourgeons charnus recouvrant le fond de plaies ulcéreuses ».

Si ces auteurs avaient étudié les lésions jeunes d'un cordon excisé, ils auraient sans doute conclu différemment (1).

La lymphangite épizootique ne peut être considérée que comme une maladie, d'abord locale, qui s'étend vers le centre en suivant rigoureusement le trajet des lymphatiques. Les ganglions de l'entrée du thorax ou de l'abdomen arrêtent le plus souvent les cryptocoques dans leur marche centripète, et il est exceptionnel que les parasites franchissent cette barrière et occasionnent des lésions des organes internes.

Le parasite. — Sa nature.

Le parasite, découvert par Rivolta, en 1873, étudié par Rivolta et Micellone et désigné sous le nom de *Cryptococcus farciminosus*, a été retrouvé par les différents auteurs qui se sont occupés de la lymphangite épizootique. Il est unanimement considéré comme l'agent spécifique de cette maladie. En revanche, sa nature même est très controversée. On en a fait tour à tour une coccidie (Canalis), un sporozoaire (Piana, Galli-Valerio), un blastomycète (Fermi et Arusch, Nocard, Tokishige, Marcone, Baruchello, Sanfelice, Pricolo, etc.), et

(1) Lorsque, sur l'animal vivant, un nodule devient perceptible au toucher, il est déjà envahi par les leucocytes et la phagocytose a commencé.

cette dernière opinion n'est généralement admise lorsque, dans ces dernières années, Sangiorgi (1), ayant repris l'étude du cryptococque, a fait du parasite une variété qu'il a baptisée *Lymphocystidium equi*. Puis, Dubois (2), considérant le cryptococque comme un parasite des lymphocytes, le rapprocha des *Leishmania* et l'appela *Leucocytozoon cryptococcoides*. Les auteurs se trouvaient alors partagés en deux camps : les uns persistant à voir dans le parasite de Rivolta un blastomycète ; les autres adoptant les idées de Gasponi ou de Dubois et en faisant un protozoaire (3). Mori (3), Ibrahim et Tappaz (4).

Le cryptococque de Rivolta a été si souvent décrit qu'il serait inutile de revenir sur sa morphologie, et les descriptions récentes ne tendent à le rapprocher de certains protozoaires connus.

Ibrahim et Tappaz notamment, s'expriment ainsi :

« Les frottis-étalons par ponction des tumeurs non ouvertes ont été colorés par la méthode de Laveran. On y retrouve, outre blanc, aux nombreux dans les lymphocytes sous les polynucléaires ou dans les grands macrophages, de petits corps sphériques ou ovoïdes de 3 à 5 μ de diamètre, semblables au parasite de la lymphe d'Orient de l'homme et n'en différant que parce qu'ils ne présentent qu'un gros karyosome et pas de noyau-nucléoïd apparent. »

L'absence de nucléoïdes apparent marque déjà une différence apparente entre le *Lymphocystidium* de Gasponi

(1) G. Sangiorgi, Lymphocystidium equi, nuovo protozoo parassita della linfa dell'epidermide equina, Ann. ital. d'anat. histologie, volume 10 (Perugia 1898), p. 1-8, pl. I-II, 1 figure.

— La lymphoparasitose proprement dite a aussi reçu le nom de *Lymphocystidium equi*, dans une note de Pierson, volume 10 (1898), p. 1-10, 1 figure, 1 tableau, 21 pages.

— La lymphite proliférante équine est il sur *Lymphocystidium* [illegible] le plus souvent [illegible] hypertrophie [illegible] Paris, 1898, [illegible] 1897.

(2) Dubois, Sur un protozoaire dans la lymphangite épizootique du cheval en Tunisie, Compte rendu de la Soc. de Biologie, 1 [illegible] 1898, p. [illegible] [illegible] p. 593.

(3) M. Mori, Contribuzione agli studi sulla lymphangite epizootica e sulla [illegible] Le Clinche [illegible] 1 [illegible] 1898, 16 pages.

(4) M. Ibrahim et L. Tappaz, Contribution à l'étude de la lymphangite [illegible] des équidés en Tunisie, Annales de l'Institut Pasteur, t. XIII, [illegible] p. 481-[illegible].

ou le *Leucocytozoon* de Ducloux et le parasite du bouton d'Orient; mais ce n'est pas la seule; lorsqu'on examine une préparation colorée d'un produit pathologique renfermant une *Leishmania*, on trouve les parasites inclus dans les mononucléaires; ces parasites affectent la forme d'une poire plus ou moins renflée et présentent un karyosome et un micronucleus très nets colorés en violet rouge par le Giemsa. Le protoplasma est bleu pâle et la membrane d'enveloppe presque imperceptible.

Dans une préparation de pus à cryptocoques, on voit ces parasites libres ou inclus généralement dans les polynucléaires. Ils présentent une forme ovale ou elliptique avec une partie colorée en rouge violet par le Giemsa et le reste en bleu. La membrane d'enveloppe, quelquefois moins nette chez les parasites intraleucocytaires que chez les cryptocoques libres, est toujours apparente.

En somme, les deux parasites diffèrent par leur forme, leur constitution, leur habitat, et nous ne pouvons suivre Thiroux et Teppaz dans leur conclusion « que la présence d'un karyosome net et l'élection tinctoriale obtenue par le mélange éosine-bleu ne permettent pas de conserver le moindre doute sur la nature de ce protozoaire ».

Plus loin, les mêmes auteurs écrivent : « On peut voir aussi le double contour caractéristique de l'ancien cryptocoque; cependant, il s'observe moins souvent sur les parasites endoleucocytaires et on le retrouve surtout sur les parasites libres ou contenus dans des débris de leucocytes. Nous pensons que ce n'est qu'un artifice de préparation, dû à une dessiccation inégale. »

De même, « l'aspect en petit citron serait dû à la dessiccation » ! !

Mais, à l'état frais, *cette membrane d'enveloppe, épaisse, réfringente, accusée par un double contour, existe, sans artifice de préparation, et les formes en citron ne sont pas rares*; point n'est besoin de dessiccation pour les faire apparaître!

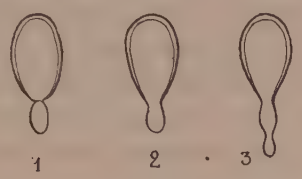
Enfin, les formes considérées généralement comme formes de bourgeonnement résulteraient, pour les partisans du parasite protozoaire, de « l'accolement de deux individus ».

Or, si certaines formes peuvent être diversement interpré-

tées, lorsque la cellule fille possède déjà sa membrane d'enveloppe (fig. 1), d'autres représentent indiscutablement des formes de reproduction : ce sont celles où la membrane réfringente n'existe plus entre la cellule mère et la cellule fille, celle-ci formant hernie à travers l'enveloppe de celle-là (fig. 2).

Ces formes sont particulièrement abondantes dans le contenu des lésions jeunes dont nous avons parlé plus haut (pl. XVII, fig. 3 et 4). On observe même, dans un tel produit, des bourgeons de deuxième génération (fig. 3).

Gasperini avait abandonné l'hypothèse levure à cause des



insuccès des cultures (si une levure poussait, elle ne reproduisait pas la maladie), à cause aussi de la résistance extraordinaire du germe, de ses caractères de structure et de multiplication. Cet auteur reconnaît parmi les granulations de l'intérieur du parasite (kyste de protozoaire) des mérozoïtes, des microgamètes pluriflagellés mobiles, des macrogamètes.

On distingue, en effet, à l'état frais, des granulations de forme variable. Souvent, on n'aperçoit dans l'élément ovale qu'un petit corps sphérique animé d'un mouvement brownien. Quelquefois, on voit plusieurs corps ronds ou plus ou moins allongés, immobiles. Que représentent ces corps? Les granulations des levures facilement cultivables ont été l'objet de tant de controverses qu'on nous pardonnera de ne pas exprimer d'opinion sur celles du cryptocoque. Nous nous bornerons de même à mentionner, sans les interpréter, les grandes formes observées déjà par d'autres auteurs.

L'insuccès des *cultures* a été la principale objection émise contre la nature blastomycétienne du parasite. Si différents auteurs disent avoir obtenu des cultures sur divers milieux, un grand nombre d'autres n'ont eu que des échecs, et on peut se demander pourquoi Marcone, Tokishige, Sanfelice, etc., ont

réussi à cultiver le cryptocoque, alors que les tentatives faites dans les mêmes conditions de température, sur les mêmes milieux, n'ont pas donné de résultats aux autres chercheurs.

Nous avons, nous-mêmes, fait de nombreux essais. Nous avons ensemencé, sur milieux animaux (sérum, sang, lymphe, extrait de cordon lymphatique malade, etc.) ou sur milieux végétaux (pomme de terre, carotte, foin, paille, caroube, etc.) glycérinés, sucrés, milieux liquides ou solides, en présence ou à l'abri de l'air, les produits recueillis, soit dans les lésions jeunes, soit dans les abcès mûrs et fermés; nous avons même lavé les parasites avant l'ensemencement pour les débarrasser d'hypothétiques substances pouvant nuire à leur développement *in vitro*. Nous n'avons jamais obtenu de cultures nettes. Peut-être avons-nous eu un début de développement dans certains milieux végétaux où nous avons cru constater un nombre beaucoup plus grand de formes de bourgeonnement qu'au moment de l'ensemencement; mais les réensemencements n'ont jamais rien donné.

Nos tentatives de cultures n'ont cependant pas toujours été stériles; nous avons vu plusieurs fois se développer des colonies de levures. Une de ces colonies, dont les éléments présentaient une ressemblance frappante avec le cryptocoque, eût pu nous faire illusion sur son origine, si l'un de nous n'avait antérieurement fait la constatation suivante : un tube de gélose au foin ensemencé par une simple strie médiane et laissé à la température du laboratoire présentait, au bout d'une quinzaine de jours, une petite colonie d'une levure rappelant assez bien le cryptocoque sans l'enveloppe à double contour; un examen à la loupe montra que la colonie s'était développée à côté de la strie d'ensemencement! Il s'agissait, sans doute, dans ces différents cas, de levures de l'air, et leur inoculation à des mulets resta sans résultat.

Cela ne veut pas dire que tous les auteurs qui ont cru cultiver le cryptocoque n'aient cultivé qu'une levure étrangère. Il faut tenir compte, surtout, de l'expérience de J. Sanfelice, qui dit avoir inoculé avec succès, à un mulet, une culture pure de quatrième génération. Rien n'autorise à contester cette expérience. Il se peut que, dans certaines conditions, indéterminées jusqu'à présent, le cryptocoque soit cultivable. Les insuccès

obtenus avec les ensemencements de pus peuvent s'expliquer par la faible quantité, dans ce produit, de parasites vivants. Mais les ensemencements pratiqués avec le contenu des petites nodosités du trajet lymphatique, où le grand nombre de formes de bourgeonnement témoigne de l'activité du cryptocoque, devraient, semble-t-il, donner des résultats positifs. Il n'en est rien, cependant, et toutes les conditions de la culture, si culture il y a, restent à fixer.

En admettant même l'impossibilité absolue de cultiver le cryptocoque, il n'y a pas lieu d'en faire pour cela un protozoaire. Il est à remarquer que, précisément, les protozoaires dont on a voulu le rapprocher, les *Leishmania*, se cultivent aisément; or, personne, jusqu'à présent, n'a annoncé la culture du parasite de Rivolta dans les milieux spéciaux. Nous avons nous-mêmes essayé, à maintes reprises, la culture sur milieu Novy-Neal-Nicolle sans plus de succès que sur les milieux à levures. En réalité, comme l'a fait observer déjà Panisset (1), l'insuccès des essais de cultures ne saurait être invoqué en faveur de l'une ou de l'autre manière de voir.

Les observations que nous avons exposées jusqu'ici, tant sur l'habitat que sur la morphologie et le mode de reproduction du parasite tendaient à nous le faire considérer comme une levure.

Ne pouvant arriver à renouveler l'expérience de Sanfelice, nous avons pensé que la méthode de déviation du complément pourrait apporter dans cette discussion un aperçu nouveau (2).

I. — Nous avons d'abord recherché la sensibilisatrice dans le sérum d'animaux atteints de lymphangite épizootique, en employant comme antigène une dilution de cryptocoques dans l'eau physiologique.

(1) L. Panisset, La place zoologique du parasite de la lymphangite épizootique d'après quelques travaux récents. *Revue gén. méd. vét.*, 1er avril 1910, p. 378, 384.

(2) *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, séances du 18 avril et du 17 mai 1910.

(Une « colonie » de la grosseur d'un petit pois, prise sur le trajet d'un cordon excisé, fut émulsionnée dans 8 c.c. environ d'eau physiologique.)

Voici le protocole de l'expérience (l'alexine étant titrée, nous avons fait varier la dose d'antigène) :

EAU physiologique.	SÉRUM chauffé d'animal à lymphangite épizootique (mulet).	ANTIGÈNE	ALEXINE (sérum de cobaye au 1/10).	APRÈS 1 HEURE à l'étuve à 36°, on ajoute :	RÉSULTATS après 20 minutes à l'étuve.
1,2	0,5	0.1	0,2	Sérum de cheval antichèvre et globules de chèvre.	Très légère hémolyse (l'antigène était en quantité insuffisante).
1,2	0,5	0,2	0,2		Pas d'hémolyse.
1 »	0,5	0,3	0,2		Pas d'hémolyse.
1,7		0,1	0,2	Id.	Hémolyse.
1,6		0.2	0,2		
1,5		0.3	0,2		
1,3	0,5		0,2	Id.	Hémolyse.
1,3	0,5		0,2		
1,3	0,5		0,2		

Même expérience avec sérum normal d'âne : hémolyse dans tous les tubes.

Conclusion. — Le sérum d'animal atteint de lymphangite épizootique renferme une sensibilisatrice pour le cryptocoque.

II. — Si le cryptocoque est une levure, peut-être arriverait-on à des résultats identiques à ceux de l'expérience ci-dessus en employant comme antigène une culture de blastomycète connu.

Nous nous sommes servis d'une levure de riz (1) cultivée sur gélose et émulsionnée dans l'eau physiologique, autant que possible, dans les mêmes proportions que le cryptocoque dans l'expérience précédente. Puis, nous avons répété l'expérience en nous servant de levure de bière et de levure de raisin.

Les doses de sérum, d'antigène et d'alexine étaient exactement les mêmes que dans l'expérience I.

Résultats. — 1° Avec le sérum d'animal malade, pas d'hémolyse dans les trois premiers tubes; hémolyse dans les tubes témoins.

2° Avec le sérum normal, hémolyse partout.

(1) Levure fermentant à haute température, isolée en Indo-Chine, par M. le Dr Calmette.

Conclusion. — La sensibilisatrice du sérum d'un animal à lymphangite épizootique manifeste son action en présence d'une levure.

Nous avons renouvelé les expériences ci-dessus en nous servant de sérum de cheval malade et de sérum normal de cheval.

L'antigène était soit le cryptocoque, soit la levure.

Comme le montre le protocole de l'expérience, nous avons fait agir les sérums en présence d'une dose fixe d'antigène et d'une dose variable d'alexine.

EAU physiologique.	SÉRUM chauffé d'animal à lymphangite épizootique (cheval).	ANTIGÈNE (cryptocoque ou levure).	ALEXINE	APRÈS 1 HEURE à l'étuve à 37 degrés, on ajoute :	RÉSULTATS après 30 minutes à l'étuve.
1,1	0,5	0,3	0,1	Sérum de cheval antichèvre et globules de chèvre.	Pas d'hémolyse.
1 »	0,5	0,3	0,2		Pas d'hémolyse.
1,6		0,3	0,1	Id.	Hémolyse.
1,5		0,3	0,2		
1,4	0,5		0,1	Id.	Hémolyse.
1,3	0,5		0,2		

Avec le sérum normal de cheval, hémolyse partout.

D'après ce tableau, on peut voir que ces nouvelles expériences ont confirmé pleinement les résultats des premières.

III. — Il fallait voir ensuite si un microbe quelconque, le *Bact. coli*, par exemple, ne pouvait agir, comme le cryptocoque et la levure, en présence de la sensibilisatrice.

Mêmes doses que ci-dessus en employant comme antigène une émulsion de *B. coli* cultivé sur gélose.

Le résultat est négatif : il y a hémolyse dans tous les tubes.

IV. — Il restait à voir si le cryptocoque ou la levure n'étaient pas capable de fixer une autre sensibilisatrice que celle du sérum d'animal à lymphangite.

Nous avons fait agir, toujours aux mêmes doses, du sérum antipesteux en présence d'émulsions de cryptocoque et de levure.

Résultat négatif : hémolyse partout.

V. — Nous avons tenté une contre-épreuve des expériences précédentes en faisant agir sur les différents antigènes, levure de bière, levure de raisin, cryptocoque, un sérum antilevure, en l'espèce, sérum de lapin ayant reçu à plusieurs reprises, sous la peau et dans le péritoine, de la levure de bière.

Ces expériences ont été répétées avec un sérum normal de lapin et en suivant toujours le même protocole.

Résultats. — Dans toutes les expériences faites avec le sérum antilevure de bière, que l'antigène soit la levure de bière, la levure de raisin ou le cryptocoque, les résultats sont les mêmes : déviation du complément dans les tubes renfermant le sérum antilevure et les différents antigènes, hémolyse dans les tubes témoins.

Avec le sérum normal, hémolyse partout.

IV. — Nous avons enfin complété ces expériences en examinant l'action du sérum d'animal à lymphangite épizootique sur la *Leishmania infantum* (parasite dont on a voulu rapprocher celui de la lymphangite épizootique), et sur un autre protozoaire, le *Trypanosoma vespertilionis*. L'antigène était constitué par des cultures des protozoaires en milieu Novy-Neal-Nicolle (liquide de condensation de la culture dilué par moitié dans l'eau physiologique).

Même réaction avec le sérum normal.

Toujours même protocole. Nous avons fait des tubes témoins avec le cryptocoque comme antigène.

Résultats. — Il y a déviation dans les tubes témoins (antigène, cryptocoque et sérum de lymphangite) et hémolyse dans les autres tubes.

La sensibilisatrice du sérum des animaux à lymphangite épizootique ne manifeste pas son action en présence de protozoaires tels que *Leishmania infantum* et *Trypanosoma vespertilionis*.

Conclusions.

I. — Le sérum des animaux atteints de lymphangite épizootique renferme une sensibilisatrice.

II. — Cette sensibilisatrice manifeste son action aussi bien en présence d'une levure qu'en présence du parasite spécifique.

III. — Un autre microbe tel que le *B. coli* n'est pas sensibilisé par le sérum d'animal à lymphangite épizootique.

IV. — Ni la levure ni le cryptocoque ne sont sensibilisés par un sérum antimicrobien tel que le sérum antipesteux.

V. — La sensibilisatrice d'un sérum d'animal préparé avec la levure de bière n'est pas rigoureusement spécifique pour cette levure; elle manifeste également son action sur une autre levure telle qu'une levure de raisin.

VI. — Un sérum antilevure dévie le complément, aussi bien en présence du parasite de la lymphangite épizootique qu'en présence d'une levure quelconque.

VII. — La sensibilisatrice du sérum des animaux à lymphangite épizootique ne manifeste pas son action en présence de protozoaires tels que *Leishmania infantum* et *Trypanosoma vespertilionis*.

Puisque : 1° *le sérum d'animal à lymphangite épizootique* dévie le complément en présence des levures comme en présence du cryptocoque, et que ce sérum ne dévie pas le complément en présence d'autres microbes ou en présence de protozoaires; 2° qu'un *sérum antilevure* dévie le complément aussi bien en présence d'une levure autre que celle qui a servi à le produire qu'en présence de celle-ci, et que ce même sérum dévie le complément en présence du parasite de la lymphangite épizootique comme en présence des levures; il résulte que, dans ces diverses expériences, *le sérum d'animal à lymphangite épizootique se comporte comme un sérum antilevure, et le parasite de la lymphangite épizootique comme une levure.*

Ces faits expérimentaux semblent, sinon démontrer, du moins étayer fortement l'hypothèse de la nature blastomycétienne du parasite de la lymphangite épizootique.

En résumé, les partisans du parasite protozoaire basent leur opinion sur l'insuccès des cultures, sur une ressemblance avec certains protozoaires et sur l'habitat du parasite qu'ils trouvent le plus souvent à l'intérieur des leucocytes.

Nous avons vu que l'insuccès des cultures ne peut être invoqué, que le cryptocoque n'a qu'une ressemblance lointaine avec les *Leishmania*, et nous croyons avoir démontré que l'agent de la lymphangite épizoötique n'est pas un parasite des leucocytes.

On peut dire, au contraire, que la ressemblance du cryptocoque avec certaines levures est frappante, par sa forme même, par ses caractères de coloration, par son mode de reproduction par bourgeonnement. Enfin, les résultats de nos expériences de déviation du complément constituent de sérieux arguments en faveur du parasite levure, et nous nous rangeons parmi les auteurs qui considèrent le parasite de Rivolta comme un blastomycète.

Étiologie.

La fréquence de la lymphangite épizootique sur le littoral et à certaines époques de l'année, a amené certains auteurs à penser que la maladie pouvait être transmise par un insecte piqueur. Thiroux et Teppaz émettent cette opinion et tendent à accuser les moustiques. Cette manière de voir cadre assez bien avec l'hypothèse du protozoaire, qui passerait ainsi par un hôte intermédiaire, mais aucun fait d'observation ni aucune expérience ne sont venus la confirmer.

Ainsi que nous l'avons dit plus haut, il semble qu'une plaie préexistante sert toujours de porte d'entrée à la maladie. Il n'est pas impossible d'admettre que des insectes, les mouches par exemple, qui affectionnent les plaies, soient les vecteurs occasionnels du parasite et des agents de contagion. Mais nous avons pu constater que des instruments de pansage peuvent remplir le même office : une blessure faite, sur un cheval sain, par une tondeuse ayant servi à la toilette d'un lymphangiteux a été le point de départ de l'infection spécifique. La maladie peut d'ailleurs être transmise par inoculation de pus à cryptocoques. L'infection n'est pas réalisée à coup sûr : tantôt on obtient, après un temps variable, un abcès suivi d'une corde lymphatique et des lésions habituelles; tantôt l'inoculation est suivie d'un simple et unique abcès au point d'injection, tantôt même il n'y a aucune manifestation consécutive. Ces résultats

différents tiennent sans doute, d'une part, à la résistance variable des sujets d'expérience, et d'autre part, à la virulence du produit inoculé.

Un cas de contagion directe à l'homme a même été constaté : un vétérinaire s'est infecté par une plaie ouverte du pouce en opérant un cheval à lymphangite (1).

L'examen de la statistique rapportée plus haut montre que la maladie est surtout fréquente pendant la saison froide et pluvieuse. Malgré la période d'incubation quelquefois longue, ces constatations ne sont pas en faveur d'un rôle possible des moustiques. Thiroux et Teppaz ont remarqué que la contagion se manifeste surtout, au Sénégal, pendant la saison chaude et humide (hivernage).

Peut-être cette morbidité plus grande pendant les saisons humides est-elle due simplement à ce que la conservation du parasite dans le milieu extérieur est favorisée par l'humidité alors qu'elle se trouve compromise par la dessiccation. Mais ce n'est là qu'une simple hypothèse.

Essais de traitement.

L'intervention chirurgicale qui consiste à exciser la totalité des lésions au bistouri ou a les détruire par la cautérisation ignée, est le seul traitement de la lymphangite épizootique employé par les vétérinaires algériens. Si l'opération jouit d'une telle faveur malgré ses inconvénients multiples, — grands délabrements, interruption prolongée du travail, etc., c'est qu'elle seule, parmi les nombreux traitements essayés jusqu'à présent, montre une certaine efficacité. Efficacité relative, d'ailleurs et qui varie avec l'âge et le siège des lésions. La proportion de guérisons par excision du cordon lymphatique est d'environ 65 p. 100.

D'après Teppaz (2) qui, au Sénégal, a comparé l'action de différents médicaments, l'iodure de potassium en injections intraveineuses aurait, seul, donné des résultats appréciables.

1. *Bull de la Soc. de path. exot.*, t. IV, 1911, p. 394. — J. Brault avait déjà signalé un cas de lymphangite épizootique chez l'homme. Janus, Harlem, 1910.

2. L. Teppaz, Essais de traitement de la lymphangite épizootique du Sénégal. *Bull. Soc. path. exot.*, t. III, 1910, p. 430.

Mais le grand nombre d'injections nécessaires pour obtenir la guérison rend le traitement peu pratique.

Le « 606 » méritait d'être essayé, et, étant données la fréquence et la gravité de la maladie à Alger, nous étions admirablement placés pour constater l'action de ce produit.

Nous avons déjà annoncé (1) le résultat obtenu sur 9 chevaux ou mulets. Nos essais ont été poursuivis et nous avons actuellement un total de 43 animaux traités.

Après quelques tâtonnements pour fixer la dose convenable, nous avons remarqué que la dose relativement faible d'un gramme donne d'aussi bons résultats que des doses plus élevées. Nous employons le « 606 » (2) en injection intraveineuse en suivant la technique de préparation indiquée par Ehrlich.

A cette dose nous n'avons jamais observé aucun phénomène général à la suite de l'injection. La température reste stationnaire. Une seule injection de 3 grammes pratiquée sur une mule, a été suivie de légères coliques et de diarrhée.

L'effet de l'arsénobenzol sur les lésions lymphatiques est rapide. Lorsque l'affection est récente, que la plaie initiale est située dans les parties moyennes des membres (genou, haut du canon), celle-ci se cicatrise généralement vite, les cordes diminuent de volume et les boutons déjà apparents s'ouvrent et s'indurent. Cordes et nodules deviennent indolores à la pression.

Si la maladie est plus ancienne et la plaie initiale située dans les régions inférieures des membres, l'effet de l'injection se manifeste souvent par l'apparition de nouveaux boutons sur le trajet lymphatique malade. Les boutons existants s'abcèdent et se vident. On dirait que l'organisme réagit en expulsant les parasites et un observateur non prévenu pourrait prendre ces phénomènes de défense pour une aggravation du mal.

Il est nécessaire, pour juger des résultats d'une injection, d'attendre trois semaines à un mois. A ce moment, la guérison est assurée lorsque les cordes ont disparu ou diminué considé-

(1) *Bull. Soc. path. exot.*, t. IV, 1911, pp. 380 et 384.

(2) Le dioxydiamidoarsénobenzol (ou 606 d'Ehrlich) que nous avons eu à notre disposition nous avait été remis par M. le Dr A. Calmette, et provenait en partie du laboratoire du professeur Ehrlich, en partie de la maison Poulenc frères, de Paris.

rablement, qu'elles sont devenues indolores à la pression et que la plaie initiale est cicatrisée; les nodules qui existent encore, fermés ou ouverts, n'ont aucune importance. Si, au contraire, la plaie initiale reste ouverte et que la sensibilité de la corde persiste, il convient de renouveler l'injection.

Le tableau suivant résume nos essais jusqu'au 15 mars 1912.

On peut remarquer que les animaux qui ont dû être abattus, soit pour cause d'infection purulente, soit par raison économique, avaient tous été infectés par une plaie des parties inférieures des membres : boulet ou pâturon.

Dans deux cas (chevaux 24 et 30) nous avons fait administrer de l'iodure de potassium, à la dose de 10 grammes par jour dans l'eau de boisson, dès le lendemain de l'infection et pendant une période de quinze jours. Ce traitement mixte n'a pas paru donner de résultats plus rapides que l'injection seule de « 606 ».

Il est difficile d'établir le pourcentage des guérisons d'après ce tableau, un certain nombre de malades ayant été traités depuis trop peu de temps, mais si l'on considère qu'une grande partie des animaux qui nous ont été amenés pour subir l'injection de « 606 » étaient difficilement opérables, à cause de l'étendue ou du siège des lésions, on voit que le nouveau médicament peut rendre d'importants services dans le traitement de la lymphangite épizootique (1).

Lorsque la corde lymphatique est bien délimitée, qu'elle est située dans une région où l'ablation des lésions peut être faite sans grands inconvénients, l'opération chirurgicale est toujours à recommander. Le traitement par l'injection intraveineuse d'arsénobenzol est, au contraire, indiqué lorsque les lésions étendues sont inopérables, que leur siège ne permet pas sans

(1) De l'action curative du « 606 » dans la lymphangite épizootique, on ne saurait tirer de déductions sur la nature discutée du parasite. Cependant une observation de Pinoy et Ravaut (communication orale), rapprochée des faits que nous venons d'exposer, tendrait à confirmer la nature blastomycétique du cryptocoque de Rivolta : ces auteurs ont obtenu une guérison rapide d'une mycose humaine (gommes à levures, cultures positives) par l'emploi du « 606 ».

Ces résultats ouvrent au « 606 » un nouveau champ d'action dans le domaine des affections mycosiques.

NUMÉROS	DÉSIGNATION des animaux	ÉTAT DE LA MALADIE au début du traitement
1	Cheval barbe.	Ancienne. Très grave.
2	Id.	Récente. Bénigne.
3	Cheval breton.	Ancienne. Opéré. Récidive.
4	Mule.	Récente. Grave.
5	Mule.	Récente. Assez grave.
6	Cheval barbe.	Très ancienne. Très grave.
7	Cheval breton.	Ancienne. Grave.
8	Mulet.	Ancienne. Grave.
9	Cheval breton.	Ancienne. Assez grave.
10	Cheval barbe.	Ancienne. Grave.
11	Id.	Récente.
12	Id.	Récente. Grave.
13	Jument bretonne.	Ancienne. Généralisée.
14	Cheval barbe.	Ancienne. Opéré quatre fois. Récidive.
15	Id.	Ancienne. Opéré. Récidive.
16	Id.	Ancienne. Opéré. Récidive.
17	Id.	Ancienne.
18	Cheval anglo-arabe.	Ancienne. Grave.
19	Cheval barbe.	Ancienne.
20	Id.	Récente. Grave.
21	Id.	Ancienne. Grave.
22	Id.	Récente. Bénigne.
23	Id.	Récente. Bénigne.
24	Id.	Récente. Grave.
25	Id.	Ancienne. Opéré. Récidive.
26	Cheval breton.	Ancienne. Bénigne.
27	Mulet.	Ancienne. Grave.
28	Cheval barbe.	Ancienne. Assez grave.
29	Id.	Récente. Bénigne.
30	Cheval percheron.	Récente. Grave.
31	Cheval barbe.	Ancienne. Opéré. Récidive.
32	Id.	Récente. Bénigne.
33	Id.	Ancienne. Opéré. Récidive.
34	Mule.	Récente. Assez grave.
35	Cheval barbe.	Ancienne. Opéré. Récidive.
36	Mule.	Récente. Bénigne.
37	Cheval breton.	Récente. Assez grave.
38	Id.	Récente. Bénigne.
39	Cheval barbe.	Récente. Bénigne.
40	Id.	Récente. Opéré partiellement.
41	Cheval anglo-normand.	Ancienne. Grave.
42	Cheval barbe.	Ancienne. Opéré. Récidive.
43	Id.	Ancienne. Grave.

NOMBRE des injections	DATE DES INJECTIONS	SIÈGE de la plaie initiale	RÉSULTATS
3	20 novembre 1910, 2 février 1911, 22 avril 1911.	Boulet.	Guérison.
1	8 décembre 1910.	Canon.	Id.
1	4 janvier 1911.	Abdomen.	Id.
2	19 janvier, 2 mai 1911.	Genou.	Id.
2	19 janvier, 2 mai 1911.	Canon.	Id.
1	4 février 1911.	Pâturon.	Mort le 9 février 1911. Infection purulente.
3	9 février, 11 mars, 22 avril 1911.	Abdomen.	Guérison.
2	24 février, 22 avril 1911.	Jarret.	Id.
1	11 mars 1911.	Epaule (trajet d'un séton).	Id.
2	29 avril, 24 juin 1911.	Boulet.	Id.
1	24 mai 1911.	Abdomen.	Id.
1	27 mai 1911.	Jarret.	Abattu le 30 mai.
1	8 juin 1911.	»	Guérison.
2	8 juin, 27 septembre 1911.	Flanc.	Id.
1	10 juin 1911.	Id.	Abattu fin juillet.
2	22 juin, 13 juillet 1911.	Genou.	Id.
2	24 juin, 13 juillet 1911.	Canon.	Guérison.
1	19 août 1911.	Boulet.	»
1	20 août 1911.	Pâturon.	Guérison.
2	20 octobre, 10 novembre 1911.	Boulet.	Abattu. Infection purulente.
1	6 décembre 1911.	Id.	Id.
1	6 décemdre 1911.	Genou.	Guérison.
1	6 décembre 1911.	Boulet.	Id.
1	18 décembre 1911.	Id.	Abattu 29 janvier 1912. Infection purulente.
1	18 décembre 1911.	Id.	Guérison.
1	23 décembre 1911.	Canon.	Id.
2	23 décembre, février 1912.	Boulet.	Abattu (par économie).
2	27 décembre 1911, 20 février 1912.	Id.	En voie de guérison.
1	27 décembre 1911.	Canon.	Guérison.
2	27 décembre 1911, 20 février 1912.	Jambe.	Id.
1	29 décembre 1911.	Thorax.	Id.
1	10 janvier 1911.	Genou.	Id.
1	10 janvier 1911.	Boulet.	En voie de guérison.
2	12 janvier, 13 mars 1911.	Canon.	Id.
1	17 janvier 1912.	Boulet.	Guérison.
1	18 janvier 1912.	Genou.	Id.
2	20 janvier, février 1912.	Thorax.	»
1	29 janvier 1912.	Canon.	Guérison.
1	31 janvier 1912.	Boulet.	Id.
1	31 janvier 1912.	Genou.	En voie de guérison.
1	2 mars 1912.	Boulet.	»
1	5 mars 1912.	Jarret.	»
1	12 mars 1912.	Thorax.	»

dangers, les délabrements nécessaires, ou encore lorsque l'affection, récente, peut être traitée sans arrêter le travail de l'animal malade. Il peut être avantageux, dans certains cas, d'associer les deux méthodes d'intervention, en excisant certaines lésions facilement abordables et en complétant le traitement par l'injection de « 606 ».

Enfin, lorsque l'opération chirurgicale est suivie de l'apparition de nouveaux boutons, le traitement interne trouve son indication.

Le cas, cité plus haut, de lymphangite épizootique chez l'homme, s'est terminé par une guérison radicale en trois jours, après une injection intraveineuse de 0 gr. 60 de « 606 ».

Essais de prophylaxie.

Avant nos premiers essais de traitement par le « 606 » nous avions voulu voir si des injections hypodermiques de levures sur les animaux à lymphangite épizootique n'auraient pas un effet favorable sur le cours de la maladie en amenant la production d'anticorps capables d'exercer leur action sur les cryptocoques.

Le cheval n° 1 avait ainsi reçu 5 injections de levures aux dates suivantes : 6 juin 1910, 14 juin, 30 juin, 13 juillet, 14 août. La première — récolte de 3 tubes de gélose (levures de riz et de bière), dans 30 cent. cubes d'eau physiologique — provoqua un engorgement qui disparut rapidement. La seconde occasionna un œdème assez volumineux qui mit une semaine à se résorber. La troisième amena la formation d'un abcès à chaque point d'injection. A la quatrième, des abcès volumineux se formèrent rapidement et s'ouvrirent en deux ou trois jours. A la cinquième (précédée, la veille, d'une injection de 2 cent. cubes seulement), tous les points d'injection furent le siège de nouveaux abcès qui évoluèrent en moins de quarante-huit heures.

Des constatations semblables furent faites sur un âne *neuf* que nous préparions en vue d'obtenir un sérum antilevures.

Nous avons assisté ainsi à des phénomènes qu'on peut rapprocher du « phénomène de Koch » (1) dans la tuberculose. L'orga-

(1) Il est difficile de dire s'il y a identité de phénomènes : dans le « phénomène de Koch » ce sont les bacilles hébergés par l'organisme qui provoquent son intolérance pour de nouveaux bacilles tuberculeux. Dans les

nisme manifeste à chaque injection nouvelle de levures une plus grande intolérance. Au lieu d'acquérir une immunité contre les levures il semble s'habituer à les expulser.

Ces observations nous ont donné l'idée de mettre à profit cette intolérance de l'organisme, dans un but prophylactique. Nous nous sommes demandé si un animal qui a reçu une injection de levures ne serait pas, par cela même, capable de mieux résister à l'invasion du cryptocoque, en expulsant plus facilement les parasites.

Une expérience actuellement en cours nous dira ce qu'il y a de fondé dans cette hypothèse : dans une écurie de 100 chevaux parmi lesquels on compte 10 p. 100 de lymphangiteux, la moitié environ de l'effectif a reçu dernièrement une injection de levures. Les chevaux de l'autre moitié serviront de témoins.

Tous les chevaux de l'écurie portant un numéro d'ordre, nous avons inoculé 46 chevaux à numéros impairs.

L'inoculation a été pratiquée le 3 mars. A l'heure actuelle — 23 mars — trois nouveaux cas de lymphangite épizootique ont été constatés sur des numéros pairs (témoins) : le premier (n° 38) le 18 mars, le second (n° 40) le 20, le troisième (n° 34) le 21. Les animaux voisins inoculés n'ont rien présenté d'anormal.

L'avenir nous apprendra s'il y a là autre chose qu'une heureuse coïncidence.

Conclusions générales.

L'observation clinique et les faits expérimentaux établissent que la lymphangite épizootique est transmissible par inoculation directe, que l'intervention d'insectes piqueurs n'est pas nécessaire.

L'étude des lésions jeunes montre que le cryptocoque de Rivolta n'est pas un parasite des leucocytes.

La morphologie, le mode de reproduction du parasite plaident en faveur de sa nature blastomycétienne.

phénomènes ci-dessus, il semble que l'organisme manifeste son intolérance même après s'être débarrassé des premières levures ; mais ce n'est pas certain. Pour pouvoir interpréter des faits d'une façon exacte, il faudrait savoir ce ue sont devenues les premières levures introduites.

Les expériences de déviation du complément révèlent chez le cryptocoque et les levures des caractères d'étroite analogie.

Le « 606 » peut être utilisé avantageusement dans le traitement de la lymphangite épizootique.

Nous adressons nos vifs remerciements à M. le Dr Ch. Nicolle, de Tunis, qui a bien voulu nous envoyer des cultures de protozoaires, et à MM. Roig, vétérinaire à Rouïba ; Cavalin, Dauzon, Adrien et Georges Mantout, vétérinaires à Alger ; Ducher et Savary, vétérinaires militaires, qui ont eu l'amabilité de mettre à notre disposition de nombreux sujets d'expérience et de nous fournir les pièces et les matériaux d'étude.

EXPLICATION DE LA PLANCHE XVII

Fig. I. — Coupe d'un vaisseau lymphatique infecté. Coloration par la méthode de Claudius. Gross. = 40 diamètres.

La coupe est pratiquée au niveau de deux nodules formés par des amas de cryptocoques. Ces foyers parasitaires sont mal délimités et des cryptocoques sont disséminés dans le tissu environnant. Les nodules sont séparés par du tissu conjonctif de réaction *m*.

Fig. II. — Même coupe vue en *n* (fig. I), au grossissement de 800 diamètres. On voit, dans la partie inférieure, quelques leucocytes parmi les cryptocoques : *a*, polynucléaires dont un renferme trois parasites ; *b*, mononucléaires ; *c*, formes de bourgeonnement.

Fig. III. — Frottis du contenu d'un nodule jeune. Gross. = 800 diamètres. Color. : méthode de Claudius.

Les cryptocoques sont libres. Les leucocytes polynucléaires *a* ou mononucléaires *b*, sont rares. Formes de bourgeonnement *c*, assez nombreuses.

Fig. IV. — Frottis du même produit coloré par la méthode de Dominici. Nombreuses formes de bourgeonnement.

SUR L'EXISTENCE DE LA RAGE CANINE DANS LE HAUT-SÉNÉGAL ET LE NIGER

par G. BOUFFARD,

Médecin-major de 1re classe des troupes coloniales,
Professeur à l'École d'application de Marseille.

(Travail du laboratoire de Bamako.)

On n'a encore donné aucune preuve de l'existence de la rage chez l'indigène de l'Afrique occidentale française. Quelques enquêtes, faites à différentes époques auprès des plus anciens administrateurs de notre empire de l'Ouest africain, sont restées négatives et n'ont pu apporter le plus petit indice permettant de croire à l'existence de la maladie. Alors qu'elle sévit si cruellement dans nos possessions indo-chinoises et malgaches, n'existerait-elle donc point dans l'Ouest africain, ou bien serait-elle ignorée de l'indigène, qui pourrait en être victime sans que son entourage en soit le moins du monde impressionné? C'est peu probable; le noir n'est point dépourvu d'un certain esprit d'observation, et s'il a reconnu de tout temps la maladie du sommeil, il est peu vraisemblable qu'il eût méconnu une maladie à symptômes aussi accusés, aussi terrifiants que ceux de la rage.

Dans les archives des directions du service de santé de l'Afrique occidentale française, on ne trouve trace d'aucune observation, d'aucune feuille clinique portant la mention « Rage »; mais on peut lire sur les certificats de rapatriement de certains fonctionnaires ou officiers, la mention : « Mordu par un chien enragé, évacué sur l'Institut de Bordeaux ou de Marseille pour y suivre le traitement antirabique. » Si donc la rage humaine ne paraît pas avoir été signalée en Afrique occidentale française, la rage canine y aurait été observée de tout temps. Elle est fort bien connue des indigènes, qui appellent « chiens fous » des chiens errants dant les morsures sont généralement mortelles pour leurs congénères, semblant

inoffensives pour les hommes. Nos administrateurs considèrent ces animaux commme enragés; ont-ils raison?

Le problème était intéressant à étudier; aussi, dès mon arrivée à Bamako, en 1906, je cherchai à me procurer un chien fou. L'administrateur Vidal, fort obligeant, m'aida dans la circonstance, et bientôt un agent de police m'en amenait un; malheureusement, l'animal brisait la mauvaise corde qui encerclait son cou, s'enfuyait dans la cour du dispensaire et mordait les deux chiens de garde de notre établissement d'assistance médicale. L'animal suspect gagnait la campagne et il ne nous restait que ses deux victimes.

L'une, chien à poil ras, de race locale, avait été mordue légèrement à la patte; elle resta avec nous pendant un an sans présenter les moindres symptômes morbides. L'autre, à poil long, provenant de la région de Tombouctou, était porteur d'une large et profonde déchirure de l'arcade sourcillière gauche. L'infirmier lava la blessure à l'eau tiède et la saupoudra de salol; après une semaine de traitement, la guérison était complète. Trois jours après, c'est-à-dire onze jours après la morsure, l'animal reste couché et mange très peu; le lendemain, il ne touche pas à sa pâtée et, de toute la journée, ne quitte pas sa niche. Le soir, vers six heures, il se lève et, l'œil vif, parcourt avec une agitation manifeste l'enclos où il est enfermé; je l'observe pendant plus d'une heure; de temps à autre, il titube, vacillant sur ses pattes de derrière; le lendemain matin, on le trouve mort dans sa cage.

L'autopsie ne révèle rien de particulièrement intéressant; l'estomac est vide.

Un morceau de bulbe, de la grosseur d'un petit pois, est broyé dans de l'eau stérile; quelques gouttes sont injectées sous la dure-mère d'un lapin, qui meurt accidentellement le cinquième jour; son bulbe ne fut pas virulent pour d'autres lapins; je perdais rapidement un virus que je ne devais retrouver qu'en 1908.

En 1907, au cours d'une tournée d'études de la maladie du sommeil sur les bords du fleuve Bani, je visitais un village, assez éloigné du cours d'eau pour être indemne de tsé-tsés et, par conséquent, habitable pour les chiens, qui ne peuvent vivre sur les bords de ce redoutable fleuve.

Un chef de village a toujours l'habitude, quand on l'interroge sur l'existence possible, sur son territoire, de la maladie du sommeil, de répondre évasivement et de tenter une digression en causant de choses et d'autres. Celui-ci me parlait constamment d'une maladie qui sévissait sur les chiens et me demandait un remède. Le village allait, disait-il, perdre ses fidèles serviteurs, très appréciés, non seulement pour les services rendus comme chiens de garde, mais aussi pour la succulence de leur chair, qui en faisait un produit de négoce très apprécié. « Nos chiens deviennent fous, mordent leurs congénères, sans épargner les noirs, et meurent. » Il m'affirma que les personnes mordues restaient indemnes, qu'il ignorait, ainsi que les habitants du village, la maladie dont je lui décrivais les principaux symptômes. J'étais malheureusement à la fin de ma tournée d'études, et je n'avais plus à ma disposition d'animaux neufs me permettant d'attendre l'occasion d'emporter le virus. Mon temps n'était point complètement perdu, puisque, faute de renseignements précis sur la maladie du sommeil, je trouvais, une fois de plus, confirmation de l'existence au Soudan d'une affection canine transmissible par morsure et paraissant bien être la rage.

Le 20 août 1909, un fonctionnaire qui s'intéressait à mes travaux, M. Constantin, rencontrait dans la ville administrative de Kouloubah un chien solidement attaché qui venait de mordre plusieurs indigènes et que l'on croyait atteint de rage. Il me le fit immédiatement conduire au laboratoire; l'animal présentait tous les signes de la rage muc; j'aurais pu entreprendre quelques expériences avant de sacrifier l'animal (morsure d'un autre chien, inoculation de la bave au lapin, etc.), mais je craignais de perdre ce virus par fugue de l'animal, aussi je le tuai par pendaison, à la mode indigène, et l'inoculation de son bulbe sous la dure-mère d'un lapin fut le point de départ de toute une série de recherches qui paraissent favorables au diagnostic de rage.

La technique employée est celle décrite dans tous les classiques : broyage d'une petite quantité de substance bulbaire dans un peu d'eau distillée stérile et inoculation, sous la dure-mère d'un lapin, de quelques gouttes du liquide.

Je n'ai pas la prétention d'apporter ici des expériences com-

plètes; des raisons multiples ne m'ont point permis de mettre ce travail expérimental à l'abri de toute critique. J'ai voulu simplement apporter une preuve expérimentale de l'existence de la rage canine, et je me suis adressé au lapin comme animal d'expérience.

Un lapin est donc inoculé le 10 août; jusqu'au 25, l'animal paraît en excellent état; il mange et n'a point maigri; le lendemain, il reste toute la journée tapi dans un coin de sa cage; quand on l'incite à se déplacer, on observe des troubles de la marche dus à une parésie du train postérieur; le 27 au matin, l'animal est couché avec de l'apnée, une paralysie complète du train postérieur; il meurt le soir. Avec son bulbe, on fait un passage sur deux lapins.

Du 10 août 1909 au 26 avril 1910, je fis 13 passages; la durée de l'incubation fut en moyenne de quinze à vingt jours, deux fois, de trente-cinq et trente-huit jours. Les animaux réagissaient presque toujours d'une façon identique; leur état général se maintenait excellent jusqu'à deux à trois jours avant la mort; ils perdaient alors l'appétit, restaient tapis dans un coin de leur cage et, quarante-huit heures avant le décès, survenaient généralement des signes de parésie suivis de paralysie complète du train postérieur. Trois fois, j'ai pu assister à des crises de rage furieuse; le lapin se précipitait à notre approche contre les parois de sa cage, les mordait; l'accès précédait généralement la mort de douze à vingt-quatre heures.

Pour chaque passage, je me servais toujours de deux ou trois lapins; j'évitais de la sorte la perte du virus par une mort prématurée consécutive à un accident ou à une maladie intercurrente. J'avais d'ailleurs constaté, dès le 1er janvier, que tous les animaux inoculés ne prenaient pas la rage; 1 sur 6 environ restait indemne, semblant réfractaire.

Rentrant très malade, à une saison où la durée du voyage sur le fleuve est longue, je ne pouvais songer à rapporter le virus rabique du Niger. Mon successeur continua les inoculations, mais, n'utilisant qu'un seul lapin, il perdit le virus au 21e passage; l'animal, inoculé le 10 mars 1910, restait indemne. Son histoire mérite d'être contée.

Ce lapin resta en observation pendant tout l'hiver sans présenter le moindre symptôme morbide. En avril, arrivait au

Laboratoire le Dr M. Blanchard, chargé de faire revivre cet établissement, qui n'avait plus de titulaire depuis près d'un an. Dans cette colonie, qui n'avait jamais pu, avant 1906, avoir à sa disposition d'une façon continue un vaccin antivariolique virulent, et qui, en quatre ans, avait vu un million de ses habitants immunisés contre la terrible endémie, il était tout naturel que le premier soin du Dr Blanchard fût de contrôler l'activité de la pulpe vaccinale de Bamako. Pour ce, il utilisa le lapin trépané sans résultat le 10 novembre 1909; il le rasa le 30 avril 1910 et beurra la surface rasée de pulpe vaccinale. Le surlendemain, l'animal présentait des signes de paralysie du train postérieur; le 3 mai, la paralysie était généralisée; la mort survenait le lendemain.

Blanchard pensa au réveil d'une rage latente et fit une série de passages les 3, 13 et 23 mai; la durée de l'incubation fut en moyenne de dix jours; les lapins mouraient paralysés; malheureusement, l'incident du 21e passage se reproduisit; l'unique animal, inoculé le 23 mai, résista à la dose de virus; Blanchard chercha à vaincre sa résistance par les procédés usuels; la vaccination resta inefficace; cette fois, le virus était définitivement perdu.

Il sera facile de le retrouver; le chien fou n'est pas, dans la boucle du Niger, une curiosité pathologique; il sera donc fort intéressant de reprendre ces recherches qui, loin d'être aussi rigoureuses et précises que je l'eusse voulu, méritaient cependant d'être publiées; elles pourront être utiles aux camarades que le sujet intéressera.

Bien que la rage humaine paraisse inconnue dans le Haut-Sénégal et Niger, je crois cependant que le fait d'avoir pu, pendant un an, transmettre de lapin à lapin, par injection intracranienne, une affection présentant tant de points communs avec la rage paralytique, plaide en faveur de l'existence de la rage canine dans cette colonie.

RECHERCHES
SUR LES PROPRIÉTÉS DU VIRUS RABIQUE
CONSERVÉ A L'ÉTAT SEC

par D. L. HARRIS.

Directeur du laboratoire municipal de pathologie et de bactériologie, Saint-Louis (États-Unis).

La valeur du traitement antirabique de Pasteur une fois universellement reconnue, beaucoup de travaux ont été entrepris par d'autres investigateurs qui ont essayé, par différentes modifications à la méthode de Pasteur, de faciliter la préparation du matériel antirabique. Dans les petits laboratoires, où les malades sont en petit nombre, le travail journalier nécessaire pour avoir en tout temps une série complète de moelles empêche l'entreprise de ce traitement.

Nous ne voulons pas passer en revue les nombreuses méthodes proposées pour la simplification du traitement. Il suffit, pour le but de cet article, de noter que Vansteenberghe (1) a décrit une méthode pour la préservation du virus. Cet auteur a trouvé que, lorsque le cerveau est rapidement desséché dans le vide, sa virulence est conservée pendant plusieurs mois. Marie (2), Remlinger et Nouri (3), Harvey et Mac Kendrick (4), et d'autres, ont répété avec succès ces expériences, dont le fait essentiel est que le matériel doit être étendu en couche très mince et desséché dans un vide sulfurique rapidement produit. La quantité de substance conservée par cette méthode est trop petite pour être d'aucune valeur dans le traitement antirabique.

Nous (5) avons décrit une méthode (6) à l'aide de laquelle les

(1) Vansteenberghe, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1903, t. LV, p. 1046.
(2) Marie, L'étude expérimentale de la rage. *Encyclop. scient.*, 1909.
(3) Remlinger et Nouri, *Comptes rendus de la Soc. de Biologie*, 1908, t. LXIV, p. 945.
(4) Harvey and Mc Kendrick, *Theory and practice anti-rabic immunization*, 43 pages in-4°. Calcutta, 1907.
(5) Harris et Shackell, *Journ. Infect. Dis.*, 1911, t. VIII, p. 47.
(6) Shackell, *Amer. Journ. of Physiol.*, 1909, t. XXIV, p. 325.

cerveaux et les moelles peuvent être desséchés *in toto*, et la virulence de ces organes peut être démontrée après plusieurs mois. Cette méthode consistait premièrement à congeler le cerveau avec un mélange de sel et de glace, et, ensuite, sans le laisser fondre, à le dessécher dans le vide sulfurique. De nombreux essais ont prouvé que la virulence restante était de 1 p. 100 de la quantité primitive. Il a fallu 0 c.c. 2 d'une dilution de 1 p. 100 (0 gr. 002) d'une moelle sèche pour provoquer la rage dans le délai usuel, tandis que 0 c.c. 2 d'une dilution de 1 p. 10.000 (0 gr. 00002) de moelle fraîche étaient suffisants pour produire la maladie dans le même temps.

Nous croyons que la dessiccation des moelles, d'après la méthode de Pasteur, produit une concentration progressive des sels et d'autres substances solubles contenues normalement dans les centres nerveux et que la destruction du virus est proportionnelle à cette concentration. D'un autre côté, quand les moelles sont successivement congelées, puis desséchées, la concentration des substances solubles et toxiques est évitée. Notre opinion est que le succès des expériences de Vansteenberghe dépend de la congélation du matériel dans le vide rapidement produit, et de la dessiccation sans concentration.

Depuis la publication de notre premier travail, j'ai essayé différentes méthodes dans le but d'augmenter la somme de virulence restant après dessiccation complète.

J'ai trouvé que, *plus complètement et plus rapidement le matériel est congelé, plus grande est la somme de virulence conservée.* Quand les cerveaux et les moelles ont été congelés avec de la neige de CO^2 et ensuite desséchés, d'après la méthode que nous allons décrire, on peut conserver de 30 à 50 p. 100 de leur virulence primitive. Il est préférable de réduire le matériel en poudre pour en faire des épreuves.

Les détails de la méthode sont les suivants : Un ou plusieurs cerveaux ou moelles sont écrasés dans un mortier de porcelaine en ajoutant, goutte à goutte, une petite quantité d'eau jusqu'à ce qu'on obtienne une pâte épaisse et homogène. Un peu de neige d'acide carbonique est ajoutée lentement à cette pâte, qui doit être constamment agitée durant l'opération pour éviter de la transformer en une masse solide. Après congélation

complète, le matériel est aussi fragile que du verre; alors, on le pulvérise, et très facilement. L'addition d'un peu de neige de temps en temps est nécessaire pour empêcher le mélange de se fondre. Le mélange de cerveau et de neige doit être transféré immédiatement dans un vase froid et placé au fond d'un exsiccateur, préalablement à demi enfoncé dans un mélange de sel et de glace à une température de —18 degrés centigrades. Dans la partie supérieure de l'exsiccateur, un vase contenant de l'acide sulfurique repose sur un réseau de cuivre, de telle manière que l'air circule librement entre le vase contenant les moelles congelées et l'exsiccateur. On place l'acide à la partie supérieure du dessicateur pour éviter sa solidification, qui se fait quand elle est trop près du mélange réfrigérant. Le vide doit mesurer moins de 2 millimètres de mercure et l'exsiccateur doit être faiblement agité d'heure en heure pour répandre l'eau absorbée partout dans le vase renfermant l'acide. Un seul cerveau ou moelle traité de cette manière sera complètement desséché entre trente-six et quarante-huit heures : mais, jusqu'à la fin de l'opération, la température ne doit pas dépasser —10 degrés centigrades.

Le produit desséché est une poudre très légère et assez hygroscopique. Il absorbe rapidement l'humidité atmosphérique jusqu'à 3 p. 100 ; alors, il se ramollit et, en quelques heures, perd toute sa virulence. Pour le protéger de toute humidité, nous l'avons scellé dans de petits tubes en verre.

Beaucoup d'expériences ont démontré que l'injection intracérébrale de 0 gr. 00002 de moelle desséchée produit les symptômes de la rage chez des lapins au 6e jour, et la mort au 7e ou 8e. L'injection de 0 gr. 00001 d'un mélange de cerveau et de moelles desséchés et conservés pendant un mois à une température de 8 degrés à 10 degrés centigrades, à l'abri de la lumière, avait produit la rage; après deux mois de conservation, sa virulence avait diminué de moitié; après trois mois, l'injection de 0 gr. 00005 était suivie de paralysie en sept jours. Quand le matériel est conservé en présence de P^2O^5, sa virulence diminue plus rapidement que lorsqu'il est conservé en présence de SO^4H^2.

Les lapins et les chiens peuvent être immunisés rapidement avec ce matériel par la méthode de Högyes. Nous avons immu-

nisé des chiens avec des moelles desséchées et conservées depuis trois mois.

Des expériences sont en voie d'exécution pour déterminer exactement les effets de la température, de la lumière et des substances chimiques sur la rapidité de la perte de la virulence. On peut si facilement peser cette poudre et déterminer si exactement ses propriétés, à n'importe quel moment, que des études sur ce sujet peuvent produire des données importantes. Les avantages de posséder du matériel d'une virulence connue et relativement permanente sont évidents.

Le Gérant : G. Masson.

Paris. — L. Maretheux, imprimeur, 1, rue Cassette.